

Série A : N° 277

N° d'ordre : 301

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Kia-wo HOU

胡嘉謨

licencié ès sciences

PREMIÈRE THÈSE : Contribution à l'étude de l'action des
ferments de la graine de soja sur les lipides.

DEUXIÈME THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 29 Novembre 1933 devant la Commission d'examen

MM. G. Bertrand Président

P. Portier

R. Combes

} Examineurs

PARIS

LES PRESSES MODERNES

45, RUE DE MAUBEUGE

1933

Série A : N° 277
N° d'ordre : 301

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Kia-wo HOU

胡嘉謨

licencié ès sciences

PREMIÈRE THÈSE : Contribution à l'étude de l'action des
ferments de la graine de soja sur les lipides.

DEUXIÈME THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Novembre 1933 devant la Commission d'examen

MM. G. Bertrand Président

P. Portier

R. Combes

} Examineurs

PARIS

LES PRESSES MODERNES

45, RUE DE MAUBEUGE

1933

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen
Doyen honoraire.....

C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.

H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
Emile PICARD.
Rémy PERRIER.
Léon BRILLOUIN.
A. DEREIMS.

E. GOURSAT..... Analyse supérieure et algèbre supérieure.
P. JANET..... Electrotechnique générale.
F. WALLERANT..... Minéralogie.
P. PAINLEVÉ..... Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND..... Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE..... Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
G. URBAIN..... Chimie générale.
Emile BOREL..... Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS..... Aviation.
Jean PERRIN..... Chimie physique.
H. ABRAHAM..... Physique.
E. CARTAN..... Géométrie supérieure.
M. MOLLIARD..... Physiologie végétale.
L. LAPICQUE..... Physiologie générale.
E. VESSIOT..... Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs

A. COTTON..... Physique.
J. DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY..... Physique.
Charles PÉREZ..... Zoologie.
Léon BERTRAND..... Géologie structurale et géologie appliquée.
P.-A. DANGEARD..... Botanique.
R. LESPIEAU..... Théories chimiques.
Paul MONTEL..... Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT..... Anatomie et histologie comparées.
E. RABAUD..... Biologie expérimentale.
O. DUBOSQ..... Biologie maritime.
P. PORTIER..... Physiologie comparée.
E. BLAISE..... Chimie organique.
G. JULIA..... Calcul différentiel et calcul intégral.
L. LUTAUD..... Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH..... Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT..... Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB..... Géologie.
P. PASCAL..... Chimie minérale.
V. AUGER..... Chimie appliquée.
H. BÉNARD..... Mécanique expérimentale des fluides.
E. ESCALANON..... Astronomie.
L. BLARINGHEM..... Botanique.
O. MAUGUIN..... Minéralogie.
A. DENJOY..... Mathématiques générales.
A. DUFOUR..... Physique (P. C. N.).
A. GUILLERMOND..... Chimie générale.
H. BÉGHIN..... Mécanique physique et expérimentale.
De BROGLIE..... Théories physiques.
G. RIBAUD..... Hautes températures.



E. PÉCHARD..... Chimie (Enseigt P.C.N.).
A. GUILLET..... Physique.
M. GUICHARD..... Chimie minérale.
A. MICHEL-LÉVY..... Pétrographie.
G. BRUHAT..... Physique.
E. DARMOIS..... Physique.
A. DEBIERNE..... Radioactivité.
L. DUROYER..... Optique appliquée.
M. JAVILLIER..... Chimie biologique.
L. JOLEAUD..... Paléontologie.
H. MOUTON..... Chimie physique.
F. PICARD..... Zoologie (Evolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY..... Zoologie.
M. FRÉCHET..... Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
FOCH..... Mécanique expérimentale des fluides.

PAUTHENIER..... Physique (P.C.N.).
M^{me} RAMART-LUCAS..... Chimie organique.
CHRÉTIEN..... Optique appliquée.
FREUNDLER..... Chimie (P.C.N.).
P. JOB..... Chimie générale.
LABROUSTE..... Physique du Globe.
PRENANT..... Zoologie.
VILLEY..... Mécanique physique et expérimentale.
BOHN..... Zoologie (P.C.N.).
COMBES..... Sciences naturelles (P. C.N.).
GARNIER..... Mécanique rationnelle.
PÉRÉS..... Mécanique des fluides.
HACKSPILL..... Chimie (P.C.N.).
LAUGIER..... Physiologie générale.
TOUSSAINT..... Technique Aéronautique.
M. CURIE..... Physique (P.C.N.).

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire..... D. TOMBECK.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

*jeune maman de trente-deux ans
emportant avec elle tout son
amour, tous ses espoirs, avec
tant de regrets dans sa tombe.*

A LA MÉMOIRE DE MES GRANDS PARENTS

*qui m'ont élevé, éduqué, instruit
et envoyé pendant neuf ans en
France pour faire mes études et
qui m'ont permis malgré leur
âge avancé, de revenir une se-
conde fois en France, lorsque
j'ai obtenu une bourse de l'Aca-
démie de Peiping.*

Pieux et reconnaissant souvenir.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur GABRIEL BERTRAND

Membre de l'Institut

Membre de l'Académie de Médecine et de l'Académie d'Agriculture

Professeur à la Faculté des Sciences

Chef de Service à l'Institut Pasteur

Hommage de respectueuse reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MES MAÎTRES

Monsieur RICHARD FOSSE

Membre de l'Institut

Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle

*qui a bien voulu m'accueillir
dans son laboratoire où je me
suis initié à la technique des
recherches chimiques.*

Monsieur EMILE ANDRÉ

Directeur de Laboratoire de l'Ecole pratique des Hautes Etudes

Pharmacien en chef de l'Hospice de la Salpêtrière

*dans le laboratoire duquel ce
travail a été exécuté et qui fut
pour moi un guide aussi sûr que
dévoué.*

Hommage de reconnaissance et de respectueux attachement.

PREMIÈRE THÈSE

Contribution

à

l'étude de l'action

des ferments de la graine de soja

sur

les lipides

INTRODUCTION

A l'heure où mon pays traverse de cruelles épreuves, une grande tristesse vient atténuer la joie que je pourrais avoir en présentant ce modeste travail au monde scientifique.

Je revois en premier lieu, les années où j'étudiais dans une école communale de la ville de Kirin (Mandchourie) aujourd'hui sous le joug de l'envahisseur. Je sais tout ce que je dois aux maîtres de mes jeunes années qui portent les noms de Yeu et Tchi, puisque ce sont eux qui m'ont enseigné *l'Amour de la Patrie et la Religion du Travail*. C'est aussi grâce à leur initiative que tout enfant, je formais le vœu d'acquérir, plus tard, les connaissances d'un docteur occidental.

Voilà bientôt vingt ans écoulés depuis cette époque et je voudrais tant leur dire que j'ai fait ce qu'ils m'ont conseillé de faire, mais hélas ! ils vivent sous la domination de l'étranger.

C'est au lendemain des premières menaces étrangères qu'un groupe de jeunes Chinois décida de venir étudier en Europe sous le patronage de la « *Société Franco-Chinoise d'Education* » afin d'acquérir des connaissances nouvelles qui pourraient nous permettre de mieux assurer la défense de notre pays. Rendons un juste hommage aux fondateurs de cette Société qui s'appellent Tsai Yuen-Pei, Li Yu-Ying, Painlevé et Herriot.

Arrivé en France vers l'âge de seize ans, j'ai pu apprécier la bonne hospitalité française. Je tiens à témoigner ici toute ma gratitude à M. et M^{me} Manteau, instituteurs honoraires qui m'ont appris la langue et la pensée française.

Je témoigne ici également ma reconnaissance envers M. Péquinat, principal du collège de Dieppe, qui m'a toujours encouragé dans mes efforts.

Je remercie ici les conseils et aides précieux que le Recteur Lirondelle a bien voulu me prodiguer lorsqu'il était professeur à l'Université de Lille.

Je m'incline devant la mémoire du regretté Doyen Lefebvre et le remercie pour les leçons philosophiques que j'ai reçu de lui. Ce sont elles qui m'ont décidé à entreprendre des études scientifiques.

Je dois mes études de licence au Doyen Maige, aux Professeurs Barrois, Malaquin, Paillot, Pruvost et à MM. de Litardière, Quinet, Rousseau et plus particulièrement de mes études de chimie aux Professeurs Pélabon, Fosse, Pariselle et à MM. François et Hieulle de la Faculté des Sciences de Lille.

Lors de mon retour en Chine, il y a 4 ans, c'est grâce aux recommandations du Doyen Maige et des Professeurs Pélabon, Pariselle et Fosse que j'ai pu trouver un bon accueil auprès des Présidents Li Yu-Ying et Li Shou-Houa et obtenir une bourse de l'Académie Nationale de Peiping qui venait d'être fondée à cette époque.

Je tiens à adresser ici, à la mémoire de mon regretté maître Pélabon, au Doyen Maige et aux Professeurs Fosse et Pariselle, l'expression de ma reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à l'adresse des Présidents Li Yu-Ying et Li Shou-Houa pour les aides et encouragements qu'ils ont bien voulu m'accorder.

De retour de Chine, j'ai pu faire mon apprentissage en vue des recherches scientifiques dans les laboratoires du Muséum National d'Histoire Naturelle et de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes sous la direction de mes maîtres Richard Fosse et Emile André. Je tiens à leur rendre ici un hommage respectueux reconnaissant et les assurer de tout mon dévouement.

Je remercie MM. Rutgers et Brunel pour l'enseignement de la Microanalyse organique quantitative qu'ils ont bien voulu me donner.

Mes remerciements vont aussi à l'adresse de M. Hasenfratz, sous-directeur de laboratoire de Chimie du Muséum pour les conseils précieux que j'ai reçus de lui.

Je remercie enfin mes camarades, MM. de Græve, Thomas et

Vernier pour les précieux conseils qu'ils ont bien voulu me donner lors de mes débuts au laboratoire.



Le présent travail a pour point de départ, une étude sur les transformations que subissent les lipides de la graine de soja dans la fabrication du lait et du fromage de soja. Cette étude a été faite sous la direction de M. Emile André. Elle a fait l'objet de deux Notes communiquées à l'Académie des Sciences :

1° Sur la présence d'une oxydase des lipides ou « lipoxydase » dans la graine de *Glycine soja* (C. R. 1932, t. 194, p. 645).

2° Sur les lipoxydases des graines de *Glycine soja* et de *Phaseolus vulgaris* (C. R. 1932, t. 195, p. 172).

Dans ces deux Notes, nous avons, mon maître et moi, 1° attribué la cause de transformation de l'huile extraite du résidu de fabrication du lait de soja en une huile oxydée, à l'existence d'un ferment oxydant des lipides et 2° montré que l'action de ce nouveau ferment est indépendante de celle des peroxydases existant dans la graine de soja.

Depuis, M. Emile André a bien voulu me confier la tâche de poursuivre cette étude tout en continuant à me prodiguer de ses conseils éclairés. J'ai pu ainsi mener à bonne fin le présent travail. Je tiens à lui en exprimer toute ma reconnaissance.

J'ai commencé par l'étude des transformations d'ordre chimique qu'a subies l'huile de soja oxydée par ce ferment. J'ai entrepris ensuite une série d'essais pour obtenir ce ferment sous une forme maniable en vue d'étudier son action sur diverses huiles animales et végétales.

M. le Professeur Gabriel Bertrand m'a très heureusement suggéré d'entreprendre à la fin de ce travail, quelques expériences gazo-volumétriques dont les résultats confirment le caractère d'oxydase véritable du ferment lipoxydant de la graine de soja. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour ses précieux conseils et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury devant lequel je présente ce travail, modeste apport à un chapitre de la science biologique à la naissance et au développement duquel, il a tant et si brillamment contribué.

Je présente mes remerciements à M. le Professeur Richard Fosse pour l'intérêt qu'il m'a témoigné et pour l'installation de micro-analyse organique quantitative qu'il a mis à mon entière disposition dans son laboratoire du Muséum.

Je présente mon respect à M. le Professeur Délépine, M. Fourné et mes remerciements à MM. Lepape, Geslin et Sandulesco pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu me témoigner.

Je remercie enfin mes compatriotes et amis Tchao Chou-chen et Liou Oin-houin pour les encouragements et les soutiens qu'ils m'ont toujours donnés et grâce auxquels j'ai pu poursuivre sans aucun souci matériel même aux heures les plus sombres que traverse mon pays, une étude que j'ai commencée le même jour que le massacre de Moukden.

CHAPITRE PREMIER

Le soja au point de vue botanique, agricole, chimique, physiologique et biochimique

Le soja est originaire de l'Asie. Il est cultivé depuis la plus haute antiquité dans les diverses parties de la Chine. Un ancien dictionnaire chinois : Kouang-ia le décrit sous le nom de « Ta-teou » ou encore « Sou ». Pour Li Yu-ying (1), il est probable que les dénominations européennes « soia » (italienne), « soy » (anglaise), « soja » (française), etc... dérivent du mot chinois « sou ». Nous l'appelons toujours Ta-teou (grand pois) ou plus vulgairement Mao-teou (pois velu ou pois pubescent), Yeou-teou (pois oléagineux) et Houang-teou (pois jaune).

Au point de vue botanique, le soja a été décrit par Linné (2) sous le nom de *Dolichos soja*. Moench (3) a créé pour lui le genre *Soja* et l'a dénommé *Soja hispida*. Bentham et Hooker (4) l'ont classé parmi les « *Glycine* ». Enfin Siebold et Zuccarini (5) ont donné le nom actuellement admis par les botanistes : *Glycine soja*.

C'est une légumineuse herbacée, à tige annuelle, dressée de 80 à 90 cm. ou de 1 m. 20 à 1 m. 50 selon les conditions de développement qui lui sont offertes. Comme toutes les papilionacées, il porte des feuilles alternes, composées et trifoliolées.

Les fleurs sont très petites. Leur calice est gamosépale. La corolle est papilionacée de couleur blanche, bleue ou variant du lilas pâle au violet foncé. Les étamines sont diadelphes, l'ovaire est libre et uniloculaire.

Le fruit est une gousse velue de 4 à 6 cm. de long sur 1 cm. à 1,5 de large renfermant de 2 à 5 graines séparées ou non par un étranglement. Les graines ont à peu près la forme d'un ellipsoïde

dont le plus grand axe varie de 6 à 8 mm. et le plus petit de 3 à 5 mm. Leur tégument est de couleur très variable : jaune, vert, rouge, brun, noir ou panaché. Les cotylédons peuvent être blancs, jaunes ou verts.

D'après l'*Index Kewensis*, il existerait trois espèces de soja :

I. *Glycine soja* (Siebold et Zuccarini) (5).

ou *Dolichos soja* (Linné) (2).

Soja hispida (Moench) (3).

Soja angustifolia (Miquel) (6).

Soja japonica (Sair) (7).

II. *Glycine hispida* (Maximoviez) (8).

III. *Glycine javanica* (Linné) (9).

Le *Glycine soja* se distingue du *Glycine hispida* en ce que ses gousses n'ont ni les étranglements ni les cloisons caractéristiques du *Glycine hispida*. Ces formes ont, du reste, une étroite parenté. La preuve en est dans le passage fréquent, par dégénérescence, du *Glycine hispida* au *Glycine soja* (10), (11).

Au point de vue agricole, le soja est en même temps, une plante des régions tempérées, chaudes et à pluies estivales. Il s'adapte aux climats les plus variés. Sa culture s'étend de 50° N au 10° S et de 70° E à 140° E : c'est-à-dire du nord de la Chine au sud de l'Indo-Chine et de l'Océanie, et de l'Inde au Japon. On a réussi à l'implanter en Afrique, aux Etats-Unis et en Italie. En France, seules les variétés hâtives mûrissent (72), (83).

C'est une plante nettement améliorante : il étouffe les mauvaises herbes et enrichit le sol en azote. Le soja est excellent pour précéder les cultures d'orge, de tabac, d'indigo et surtout de maïs, de sorgo et de riz comme cela se pratique depuis longtemps en Chine (81), (82).

Dans le commerce international, la Mandchourie occupe une situation à peu près exclusive comme pays producteur de soja. Le soja pousse dans toutes les parties de la Chine, mais c'est seulement en Mandchourie qu'il est cultivé pour l'exportation. En 1926, 1927, 1928 et 1929, la récolte moyenne de soja dans la Mandchourie atteignit près de 5 millions de tonnes. Celle de l'année 1930 est de 5.838.000 tonnes et 1931 : 5.760.000 tonnes. Un quart de la récolte est employé sur place, le reste est exporté ; 60 % de cet important tonnage partent sous forme de graines et 40 % sous forme de tourteaux, farine et huile (12).

Au point de vue chimique, le soja se différencie des autres légumineuses par sa richesse en protides et en lipides alors qu'il est relativement pauvre en glucides. C'est ainsi qu'une coupe de graine de soja n'est pas colorée en bleu par l'iode, par contre elle donne des réactions très nettes avec le réactif de Millon.

D'après les analyses des différents auteurs sur des graines d'origine diverse, on peut dire qu'en général : (13)

- I) la teneur en protides varie entre 31-38 % (dans certain cas, on a indiqué aussi 22-30 % ou 39-49%)
- II) la teneur en lipides varie entre 16,5-18,5 % (dans certain cas on a signalé 12-15 % ou 19-22 %)
- III) la teneur en glucides est voisine de 6-10 %.

Les protides de soja ont été étudiés en premier lieu par Meissel et Böcker (14) en 1883. D'après eux, il existerait dans la graine de soja, de la légumine ou caséine végétale et une albumine qui ne serait qu'un produit de transformation de la première. Plus tard, en 1898, Osborne et Campbell (15) en a retiré une globuline particulière à laquelle ils ont donné le nom de glycinine. Cette glycinine, d'après ces auteurs, posséderait toutes les propriétés de la légumine ; mais elles se différaient par la composition centésimale :

	C %	H %	N %	S %	O %	Auteurs
Légumine.....	51,24	6,99	16,38	0,47	24,92	Meissl et Böcker
Glycinine.....	52,12	6,93	17,53	0,79	22,63	Osborne et Campbell

Plus tard, en 1921, Jones et Watermann (16) ont étudié les amino-acides qu'ils ont retirés de la glycinine par la méthode de Van Slyke. D'après ces auteurs, il existerait :

Cystine.....	1,18	Arginine..	8,07
Histidine.....	1,49	Lysine....	9,06
Tryptophane. .	1,37		

Les glucides de soja ont été étudié par Levallois (17) en 1881, il a trouvé 9-11 % d'une matière sucrée incristallisable à α D + 115°. Chauffée avec l'acide azotique, elle donne de l'acide acétique et de l'acide mucique.

Morawski et Stingl (18) trouvèrent du saccharose dont la présence fut confirmée plus tard par Schulze et Frankfurt (19).

En 1913, G. Tanret (20), (21) a obtenu après passage par le sucrate de strontiane, un sucre qui concentré en sirop a cristallisé en masse. Après recristallisation dans l'alcool 85°, il avait $\alpha_D + 132^\circ 5$ et présentait toutes les propriétés de stachyose.

Tanret a pu obtenir aussi du saccharose bien cristallisé par l'intermédiaire de sel de baryum et il a conclu qu'il existerait dans la graine de soja : 8,68 % de sucre à $\alpha_D + 92^\circ$ dont 38,6 % de stachyose et 61,4 % de saccharose.

D'après Kodama (84), (85) il existerait dans la graine de soja deux cétoaldéhydes de formule $C^5 H^6 O^2$ et $C^6 H^8 O^2$ ayant l'odeur typique du soja, odeur grâce à laquelle on pourrait déceler 1 partie de ces composés dans 100 millions de partie d'air.

Ces cétoaldéhydes donnent un miroir d'argent avec la solution d'argent ammoniacale, mais ne donnent pas de composé bisulfite. Kodama a pu déterminer la formule de constitution du premier de ces cétoaldéhydes et qui serait :



Le second serait un homologue supérieur du premier, mais on ne sait pas si cette substance était :



ou un mélange de ces trois isomères.

Les lipides de soja, ont été classées par Lewkowitsch parmi les huiles siccatives. Voici les propriétés de cette huile indiquée par divers auteurs (22) (23).

Auteurs	Densité	I.S.	I.I.	I. Acét.	I. Acid.
Morawski et Stingl	0,927	192,9	122		
De Négri et Fabris	0,924	192	121		
Meister.....	0,927	191,7	133,6		5
Nikitin	0,951	212	113,9		
Stock	0,927	198	129,9		1,7
Mathes et Dahle	0,926	192	131		5,7
Baughmann et Jamieson..	0,9203 (25°)	189,5	128	17	0,5
Pfahler	0,9254 (20°)	187,7	132	12,8	1,9

En mettant à part les données de Nikitin, on voit que la variation des indices se porte surtout sur l'indice d'iode ; c'est aussi ce que nous avons constaté sur les huiles que nous avons extraites au laboratoire à partir de quatre sortes différentes de graines de soja jaune. Ces huiles ont les propriétés suivantes :

	Teneur	D ₄ ¹⁸	I. IBr	I. Acét.	I. S.	I. Acid.
I)	17,2 %	0,9273	130,5	5,2	192,5	2,4
II)	16,8 %	0,9276	130	5,5	193,5	2,6
III)	17,5 %	0,9278	124,5	9,2	192	2,6
IV)	19,0 %	0,9264	121	11,0	192	2,5

La lecithine de soja a été étudiée par Holtz (24), (25). D'après lui il existerait 18,5 % de lecithine dans la graine de soja, cette proportion a été calculée indirectement d'après la teneur en phosphore des graines, mais elle est basée sur l'hypothèse que tout le phosphore se trouve à l'état de lecithine, ce qui ne peut pas être exact. « La lecithine de soja présente, dit-il, une agréable odeur aromatique et correspond complètement, au point de vue de composition, avec celle du jaune d'œuf ».

Au point de vue physiologique, Leclerc du Sablon (86) a étudié l'accumulation des lipides de réserve pendant la maturation de la graine de soja et leur disparition pendant la germination.

Au cours de maturation de la graine de soja, la quantité des lipides croît régulièrement : ce qui est normal pour une graine oléagineuse. Mais la teneur en glucose est, par contre, très faible. La teneur en saccharose et en dextrine est aussi faible, mais elle reste à peu près constante : « ce qui est tout à fait différent, dit-il, des graines oléagineuses chez lesquelles la proportion des sucres est, en général, très forte au commencement de la formation de la graine et diminue ensuite de façon à devenir à peu près nulle au moment de la maturité ». Nous reproduisons ici les données de ce savant :

Date	Huile %	Glucose %	Saccharose %	Dextrine %
30 Juillet...	12,8	néant	4,7	0,7
4 Août....	16,6	néant	4,5	2,9
11 Août....	16,9	trace	3,9	1,6
20 Août....	17,0	0,2	4,0	1,8
29 Août....	18,7	0,7	4,1	3,2

Au cours de la germination, on a constaté les mêmes anomalies la proportion de glucose, d'abord relativement faible, augmente

peu-à-peu ; le saccharose qui est relativement plus abondant dans les graines non germées, est digéré peu à peu de telle sorte que la teneur des sucres reste à peu près constante : ce qui n'est pas normal. De même les dextrines sont aussi peu abondantes dans les graines non germées que dans les graines en germination. Par contre, la proportion d'huile décroît régulièrement pendant la durée de la période germinative à l'inverse de ce qui s'était passé de la période de maturation :

Durée de la germination	Huile %	Glucose %	Saccharose %	Sucres totaux %
0 jours.....	18,2	0	6,5	6,5
2 jours.....	17,4	0,9	5,4	6,3
4 jours.....	17,6	1,0	3,9	4,9
7 jours.....	10,9	1,4	3,1	4,5
9 jours.....	8,9	1,6	3,2	4,8
12 jours.....	5,4	1,8	3,9	5,7

Au point de vue biochimique, on a pu déceler dans la graine de soja l'existence de nombreux agents diastiques.

Comme diastase hydrolysantes ou hydrolases on doit citer en premier lieu l'Amylase. D'après une étude de Morawski et Stingl (26), la diastase des graines de soja convertirait l'amidon en sucre pour les 2/3, et en dextrine pour 1/3. Ils ont conclu que la faible proportion d'amidon contenue dans les graines de soja serait une conséquence de la présence de cette diastase.

Plus tard Street et Bailly (27) ont précisé qu'un gramme de soja hydrolyse complètement 0,1 gramme d'amidon en 3 heures à la température de 55° et que l'action de la graine de soja sur son poids d'amidon s'arrête au stade de l'érythro-dextrine.

Samec (28) a signalé en 1925, l'existence dans la graine de soja d'une diastase qui aurait le pouvoir d'hydrolyser les amylophosphates naturels et synthétiques en acide phosphorique et résidu organique.

Une étude de G. Bertrand et Rivkind (29) a montré que les graines de soja ne contiennent pas de vicianine cependant elles renferment la diastase dédoublant la vicianine comme presque toutes les graines de Légumineuses.

La plus connue des diastases de soja est certainement l'Uréease. Cette diastase a été signalée par Takeuchi (30) elle a trouvé depuis des nombreuses applications scientifiques et industrielles (31).

Au cours de ces dernières années ; Fosse et Brunel (32) ont mis à jour « un ferment insoupçonné, producteur d'acide allantoïque par fixation d'eau sur l'allantoïne ». Ils l'ont rencontré dans de nombreuses graines de légumineuses et plus particulièrement chez celles de soja : il a reçu le nom d'allantoïnase.

Comme diastase hydrolysante des lipides, Falk (33) a décelé en 1915 la présence de lipase dans la graine de soja. D'après une étude faite par Barton (34) la lipase de soja paraît moins active que celle de ricin, mais les limites d'acidité dans lesquelles se manifestent les activités des lipases de ces deux graines sont sensiblement les mêmes.

Comme *diastases oxydantes ou oxydases*, récemment, à propos de la formation de l'acide allantoïque par fermentation de l'acide urique sous l'influence de soja, Fosse, Brunel et de Græve (35) ont conclu que c'est l'œuvre de deux diastases : « L'une, disent-ils, appartenant à la classe des oxydases de G. Bertrand, dégrade l'acide urique en allantoïne, comme l'uricase des animaux ; l'autre, dont nous avons fait connaître l'existence chez les végétaux et les animaux, produit l'acide allantoïque par simple fixation d'eau sur l'allantoïne. »

D'autre part, en 1923, Nitzescu et Cosma (36) ont fait remarquer que la farine de soja est capable de décolorer le bleu de méthylène d'après la méthode de Thunberg, ce qui indique la présence d'une déshydrogénase. La déshydrogénase de soja est beaucoup plus active que celle de *Phaseolus vulgaris*. En effet, la farine de soja, d'après ces savants, présenterait un pouvoir intense de décoloration en absence d'activateur (acide malique) et celui-ci n'exerce presque aucune influence dans le sens d'une activation, tandis que la farine de *Phaseolus vulgaris* n'a qu'un pouvoir de décoloration très faible sans addition de l'activateur.

Tout dernièrement, en collaboration avec E. André (37), nous avons signalé la présence d'une oxydase des lipides dans la graine de soja et nous appelons : lipoxydase, nous en décrirons plus longuement les propriétés dans les chapitres suivants.

Comme *peroxydases*, Street et Bailly (27) ont mis en évidence en 1915, par la teinture de gaïac, l'existence d'une peroxydase dans la graine de soja.

En résumé, les diastases connues de la graine de soja sont les suivantes :

I Diastases hydrolysantes. -	{	Amylase
		Diastase des amylophosphates
		Diastase de la vicianine
		Uréase
		Allantoïnase
		Lipase
II Diastases oxydantes...	{	Uricase
		Déshydrogénase
		Lipoxydase
III Peroxydase		

CHAPITRE II

Produits Alimentaires et Industriels à base de Soja

Dans les pays d'Extrême-Orient, un grand nombre de produits alimentaires sont préparés avec des graines de soja. Nous en donnons la liste ci-dessous :

- I) germe frais de soja en germination
- II) laiterie de soja :
 - { lait frais : lait de soja
 - { lait coagulé : fromage de soja
- III) huilerie de soja :
 - { huile de soja
 - { tourteau de soja : farine de soja
- IV) condiments de soja :
 - { sauce de soja

Tous ces produits alimentaires sont préparés et consommés depuis la plus haute antiquité en Chine

I *Germe de soja.* — En faisant germer des graines de soja dans une serre humide avec quelques soins particuliers, on obtient des germes pouvant être consommés comme légumes frais.

II *Laiterie de soja.* — Semblables aux crémeries de France, les laiteries de soja se trouvent dans les diverses agglomérations urbaines ou villageoises de Chine. Des ouvriers y préparent quotidiennement ce lait végétal tout comme le boulanger des pays d'occident pétrit et cuit son pain.

On fait tremper la veille au soir des graines de soja dépourvues de tégument dans des grands récipients et on les broie le lendemain à l'aube avec de l'eau sous des grandes meules de granit, on obtient ainsi une émulsion appelée Téou-jou ou lait de

soja dont on sépare par filtration à travers une toile, les débris cellulaires en suspension qui constituent un résidu de la fabrication servant à nourrir le bétail.

Le lait de soja est reçu ensuite dans des grandes chaudières où on le fait bouillir. A l'ébullition, on voit apparaître à la surface du lait, une pellicule appelée Téou-pi ou pellicule de soja qu'on sépare et qu'on sèche. Bientôt après, en apparaît une deuxième que l'on retire de même, puis une troisième, une quatrième etc... jusqu'à une dizaine. Ces pellicules comestibles sont fort recherchées par les déjeuneurs qui les consomment avec d'autres aliments en absorbant le lait de soja comme boisson : celui-ci remplace en Chine le lait de vache des occidentaux.

Une fois que le déjeuner est servi, le lait de soja qui reste ne peut être conservé, on l'utilise pour fabriquer le Teou-fou ou fromage de soja. Pour pratiquer cette préparation, on commence par le verser dans des baquets en bois où il se refroidit. Le liquide est ensuite coagulé au moyen d'une solution assez diluée de sel gris, ou de gypse cuit. On verse le caillé dans des chassis fermés à la partie inférieure par des linges fins qui laissent passer le petit lait, on achève d'égoutter en posant sur le fromage une planche chargée de poids et on obtient finalement le fromage frais de soja.

Ce fromage peut être consommé frais comme le fromage blanc de lait de vache, on l'assaisonne avec de l'huile, du sel et du persil ; mais il sert surtout à faire des ragoûts avec du porc ou du poisson.

Le fromage frais contient de 75 à 90 % de son poids d'eau, il peut être conservé sous l'eau, mais pendant peu de temps. Aussi fabrique-t-on en Chine des fromages secs. On enveloppe pour cela, le caillé dans des toiles fines qu'on presse progressivement dans une presse à levier. Au bout de 6 à 10 heures, on obtient des fromages secs en galettes carrées appelés Téou-ken ou en feuilles minces appelées Tsien-tchang (mille-feuilles) ; ils ne contiennent plus que 15 à 18 % d'eau. Ces fromages peuvent être consommés tels ou servent à faire des macédoines et des ragoûts.

Pour la conservation de longue durée, on a recours aux fromages salés et fermentés. Ils sont préparés à partir du fromage frais taillé en cube qu'on saupoudre avec du sel marin et empile

dans des pots de terre placés en un endroit chaud et humide ; on y ajoute parfois de l'eau-de-vie. Ces fromages sont bons à manger au bout de plusieurs mois et consommés à la façon du gruyère et du camembert.

III. *Huilerie de soja*. En Chine, l'huile de soja est extraite par pression. Les graines lavées, décortiquées et broyées sont soumises à l'action de la vapeur d'eau, puis enveloppées dans des toiles de chanvre, de lin ou d'autres textiles végétaux du pays, elles sont exprimées avec des pressoirs à vis.

L'huile de soja est employée dans la cuisine chinoise comme huile à frire tandis que le tourteau qui en résulte sert à faire des farines composées de maïs et de soja que les ouvriers et paysans chinois achètent pour faire leur pain ; c'est le pain des pauvres.

IV. *Condiments de soja*. Les condiments de soja sont des produits de fermentation lente des graines de soja avec du blé ou du riz dans une solution de sel marin, sous l'influence de l'*Aspergillus oryzae*. La présence de cette moisissure est due à l'ensemencement naturel ou artificiel. Nous donnons ci-dessous une liste résumée des condiments préparés par les divers peuples de l'Extrême-Orient :

Annamites : Tuong (soja torréfié et bouilli, additionné de riz fermenté).

Chinois : $\left\{ \begin{array}{l} \text{Teou-tjing (soja cuit, riz ou blé grillé ; moisissure naturelle).} \\ \text{Tjing-yeou (soja cuit, farine de blé, moisissure naturelle).} \end{array} \right.$

Japonais : $\left\{ \begin{array}{l} \text{Miso..... (soja bouilli, additionné ou non de riz, ensemencement artificiel).} \\ \text{Schoyou (soja cuit, froment grillé et moulu, moisissure naturelle — soja et blé cuits moisissure naturelle ou ensemencement artificiel).} \end{array} \right.$

Javanais : Ketjap (soja et froment cuits, moisissure naturelle).

Comme on peut le constater, tous ces produits sont semblables à quelques détails près. Aussi n'en décrivons-nous que deux types : le Tjing-yeou et le Miso. Le premier est à l'origine de tous les autres, tandis que le second est plus moderne.

TJING-YEOU ou SAUCE DE SOJA... Le Tjing-yeou est préparé à partir des graines de soja ramollies par la cuisson. Elles

sont saupoudrées avec de la farine de blé et établies ensuite sur des nattes de paille placées à un endroit humide et chaud. Après le développement de la moisissure, on expose les graines prises en pâte à la lumière solaire. On les met enfin dans une solution de sel marin contenue dans de grands barils. Ces récipients sont exposés au soleil pour activer la transformation des substances mises en œuvre. La pâte de soja épaisse au début, agitée plusieurs fois par jour se liquéfie, lentement. En même temps, elle se colore en brun. Le mélange fermenté est ensuite filtré dans des corbeilles, dans lesquelles on a placé une poche de linge fin ; la sauce en est retirée par pression. Une semblable fermentation dure très longtemps, on compte au moins cinq mois ; plus le temps de fermentation est prolongé, plus fine est la sauce qui en résulte.

MISO DE SOJA... Il existe deux sortes de Miso (38), le Miso Edo et de Miso Sanshu. Le premier est préparé à partir du riz poli bouilli qu'on ensemence avec le Koji (*Aspergillus oryzae*). Après avoir été maintenu trois jours à 70° -80° F (21° -27° C), il est mélangé avec des graines de soja bouillies, du sel et de l'eau. Le mélange est introduit dans les grands barils en bois, chargé de poids et abandonné à la fermentation pendant 2 à 4 semaines.

Le Miso Sanshu est obtenu par ensemencement avec le koji de graines de soja bouilli. On mélange ensuite avec du sel et de l'eau. Le tout est emballé sous poids et abandonné à la fermentation pendant deux ans.



L'introduction de soja en Europe et en Amérique ne date que de 1779 (39). Son emploi a pris ces derniers temps un nouvel essor. C'est ainsi que du pain à farine de soja et de maïs des Chinois, Lecerf et Dujardin-Beaumetz (40) ont préconisé l'emploi du pain de soja, pour les diabétiques, du lait et de l'huile de soja, on en a fait une matière première pour la fabrication de caséine végétale, de lécithine, de margarine, de savon et de peinture, etc.

1° *La fabrication de la caséine végétale* (43) rappelle tout à fait la fabrication du fromage de soja des Chinois à cette différence près que dans la fabrication de la caséine de soja, on fait

une extraction préalable et totale de l'huile afin d'obtenir de la caséine bien blanche et bien pure.

Les graines sont d'abord nettoyées par un sassage préalable ou par un lavage mécanique suivi de séchage. Puis elles sont broyées et épuisées par un dissolvant des lipides (le plus souvent par l'essence (Eb. 60° — 80°) dans de grands appareils industriels.

Les tourteaux secs et exempts de solvants sont délayés dans l'eau et triturés sous meules. On emploie généralement 15 kilogrammes d'eau pour un kilogramme de tourteau en commençant par des petites quantités. Le malaxage est suivi d'un pressage au filtre-pressé pour obtenir un liquide laiteux qui contient toute la caséine de soja.

Le liquide laiteux est introduit dans des cuves cylindriques en bois, munies d'agitateurs mécaniques et de serpentins de chauffe en fer étamé. On y ajoute du gypse pulvérisé en raison de 500 grammes pour 1.000 litres de lait et on chauffe. La caséine se précipite en grumeaux qu'on recueille par filtration et qu'on lave sur des toiles.

On termine l'opération par un raffinage à la soude étendue qui dissout la caséine et à l'acide acétique qui la précipite. Après avoir répété plusieurs fois cette opération on la lave à l'eau, la pulvérise et la passe au filtre-pressé. On obtient finalement une caséine très pure et très blanche qu'on sèche à basse température dans le vide.

Comme la caséine animale, la caséine de soja industrielle est susceptible d'une foule d'applications : ainsi on peut l'employer :

1° Pour le collage ou couchage du papier.

2° Pour l'imperméabilisation des tissus, des chapeaux de paille.

3° Pour l'impression du calicot.

4° Pour la préparation des soies et textiles artificiels, de caoutchouc et de cuir, des matières élastiques et plastiques, des émulsions photographiques, et des objets imitant l'os, l'ivoire, l'écaille, la corne, etc..

II° *Pour la fabrication de margarine, de savon et de peinture* (41)
l'huile de soja est soumise d'abord à un raffinage préalable

au moyen de la terre à foulon (précédé parfois d'une neutralisation avec la soude caustique concentrée) qui a pour effet de la blanchir, de la débarrasser de son mucilage et d'atténuer sa saveur de haricot.

L'huile ainsi raffinée est employée en Hollande, en Danemark, en Allemagne et en Grande-Bretagne dans la fabrication de la margarine où elle remplace l'huile de coton ou d'arachide. Elle est aussi employée pour la cuisson des conserves de poissons.

L'huile de soja a pris une place importante dans la fabrication des savons, elle s'y est substituée à l'huile de coton et à l'huile de maïs. L'expérience qui en a été faite depuis permet de la caractériser comme ayant des propriétés intermédiaires de ces deux huiles.

C'est surtout dans la direction de l'utilisation comme huile siccative que les efforts se sont portés. Les premiers essais ont montré que l'huile de soja ne pouvait être employée seule comme huile de peinture, sa dessiccation demandant un temps trop long et donnant une pellicule insuffisamment dure. Les essais de cuisson entrepris ensuite ont été beaucoup plus heureux. Des maisons anglaises et hollandaises présentent actuellement des huiles de soja cuites et des huiles mixtes de lin et de soja cuites qui se comportent parfaitement quels que soient les pigments ajoutés. La couche obtenue est solide, brillante et élastique.

Dans la même voie, l'huile de soja a été préconisée et essayée dans la fabrication des linoleums et des caoutchoucs artificiels. D'autre part, une étude a été faite sur la préparation d'un combustible liquide ressemblant au pétrole par distillation du sel de calcium de l'huile de soja (51), (52). Mais on ne peut pas encore se prononcer sur la valeur de ces dernières applications.

Nous indiquons en dernier lieu que les pieds ou dépôts de l'huile de soja ont été utilisés comme source de lécithine. Une étude de Hôltz (24), (25) a montré qu'ils contiennent 48,67 % de lécithine.

D'après un brevet de Riedel (42) on l'extrait de la façon suivante : les pieds d'huile sont desséchés à chaud et dans le vide ; on les traite ensuite par l'alcool méthylique qui dissout les matières visqueuses contenant la lécithine. Puis, par purification par l'acétone, on obtient de la lécithine assez pure qui peut être utilisée comme celle provenant du jaune d'œuf.

CHAPITRE III

Etude des transformations que subissent les lipides dans la fabrication du lait et du fromage de soja

Nous avons estimé utile de faire un court exposé sur la graine de soja et ses applications parce que les usages de cette plante sont encore mal connus en France.

Le soja et ses dérivés ont été l'objet de très nombreuses recherches et nous ne pourrions les analyser toutes ici sans sortir du cadre de notre travail.

Parmi ces travaux, nous parlerons cependant de ceux de Kodama (38) qui ont trait à l'huile de Miso de soja ; parce que cette étude est seule de son genre dans la littérature biochimique des lipides. L'auteur a fait une étude comparative de l'huile des graines de soja et de l'huile de Miso de soja. D'après ses données on a pu constater que la densité des huiles de miso est devenue plus grande et qu'en même temps leur indice d'iode s'est abaissé. D'autre part, les indices d'acidité et de saponification sont beaucoup plus élevés. Il est certain qu'on doit attribuer ces transformations au développement du champignon *Aspergillus orizæ*. Mais ce travail mériterait d'être complété par de nouvelles recherches.

Pour notre part, nous avons entrepris l'étude des transformations subies par les lipides dans la fabrication du lait et du fromage de soja (44) parce que, comme nous l'avons déjà dit, ces dérivés alimentaires constituent avec le riz ou le blé, la base de la nourriture des habitants de la Chine.

L'introduction en Europe du lait et du fromage de soja comme aliment économique a été l'œuvre de Li Yu-Ying. Il les a préconisés dès 1905 et a créé un laboratoire d'étude et une usine de la « Caséo-sojaïne » à Colombes. Plus tard Bloch a étudié la question et conseillé l'emploi du fromage en feuilles minces pour les armées.

Il existe encore à l'heure actuelle, plusieurs laiteries de soja dans la proche banlieue de Paris. C'est dans la laiterie de Colombes que nous avons pu nous procurer les matériaux de recherches. Nous avons étudié comparativement les huiles extraites par dissolvant :

- 1° des graines de soja broyées à sec,
- 2° du fromage frais de soja,
- 3° du résidu de fabrication du lait de soja.

Le fromage et le résidu sont apportés au laboratoire (à Paris) aussitôt la fabrication terminée. Enveloppés séparément dans des linges fins, ils ont été pressés puis séchés à l'étuve à 40° C avant l'extraction de leur huile. Un échantillon des graines qui avaient servi à la fabrication nous fournissait l'huile de comparaison.

Les huiles ont été extraites par l'éther au réfrigérant reflux dans une allonge (Figure I)* et leurs principaux caractères ont été déterminés d'après les méthodes suivantes :

1° La densité D_4^{15} est déterminée par la méthode du flacon (10 c. c., 20 c. c. ou 50 c. c. selon la quantité de matière disponible) avec correction de 0,00065 par degré au-dessus ou au-dessous de 15°.

2° L'indice d'iode (I. IBr) est pris selon la méthode de Hanus (45) par le bromure d'iode en solution acétique N/10 sur 0 gr. 2 de matière dissoute dans du chloroforme, et 2 heures de contact.

3° L'indice d'acétyle (I. Acét.) est établi d'après la méthode d'Emile André (46) par l'anhydride acétique (P. E. 137°) et le xylène (P. E. 138° — 140°) sur 2 gr. de matière.

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

4° L'indice de saponification (I. S.) a été déterminé avec la solution alcoolique de potasse N, en opérant sur 2 gr. de matière, ébullition à reflux 1 heure et titrage en retour par une solution d'acide chlorhydrique N/2.

5° L'indice d'acidité (I. Acid.) exprimé en milligrammes de KOH est titré par une solution de potasse aqueuse N/10 sur 2 gr. de matière dissoute dans un mélange neutre à volumes égaux de chloroforme et d'alcool à 95°.

Les huiles de soja obtenues à partir des graines, du fromage et du résidu examinées par ces méthodes nous ont montré :

1° que l'huile extraite du fromage de soja ne diffère pas sensiblement de celle qui est extraite à partir des graines ;

2° que l'huile provenant du résidu de fabrication du lait de soja présente au contraire des différences marquées avec les deux autres. Par sa densité élevée, son fort indice d'acétyle et son faible indice d'iode, cette huile ressemblait à une huile oxydée à chaud par insufflation d'air (huile soufflée ou épaissie).

Avant d'être coagulé pour en faire du fromage, le lait de soja est soumis à l'ébullition ; au contraire le résidu de fabrication, considéré comme un produit de rebut, ne subit pas le même traitement. Nous avons été amené à penser que la transformation rapide de l'huile contenue dans le résidu devait être due à des actions fermentaires.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons prélevé sur place, du résidu de fabrication de lait de soja aussitôt la fabrication terminée et nous l'avons jeté, séance tenante, dans l'eau bouillante. L'ébullition a été maintenue quelques instants. Le résidu cuit fut ensuite séparé par décantation et filtration sur toile. Il a été finalement séché et dégraissé dans les mêmes conditions que le résidu crû. L'examen de ce nouvel échantillon d'huile confirma notre façon de voir. En effet, elle diffère à peine des huiles extraites des graines et du fromage, elle n'a pas subi les transformations de l'huile extraite du résidu crû.

Le tableau suivant permet de comparer les propriétés des différentes huiles étudiées :

HUILE DE :	D ₄ ¹⁵	I. IBr	I. Acét.	I. S.	I. Acid.
a) GRAINE.....	0,9276	130	5,5	194	2,6
b) FROMAGE	0,9268	130	6,9	193	1,6
c) RÉSIDU { CUIT..	0,9303	128	7,6	192	2,3
{ CRU..	0,9388	110	27,1	200	6,8

Pour avoir une idée plus nette de cette transformation oxydante des lipides dans les tissus des graines de soja broyées avec de l'eau, nous en avons abordé plus directement l'étude et nous nous sommes procuré des graines de soja d'une autre provenance que celles de la laiterie de soja de Colombes.

Les graines ont été broyées : les unes à sec et extraites aussitôt par l'éther : les autres avec de l'eau puis séchées dans une étuve à 40° C et finalement extraites par l'éther : enfin un troisième lot de graines a été broyé avec de l'eau et traité dans les mêmes conditions que précédemment à cette différence près que les graines mises en œuvre avaient été soumises préalablement à l'action de l'eau bouillante.

L'examen des principaux indices de ces huiles nous a fourni les données analytiques suivantes :

HUILE EXTRAITE A PARTIR DES	D_4^{15}	I. IBr	I. Acet.	L. S.	I. Acide
a) GRAINES CRUES ET BROYÉES					
A SEC	0,9278	124	9,2	192	2,6
b) GRAINES CUITES ET					
BROYÉES AVEC DE L'EAU .	0,9251	125	6,2	196	3,8
c) GRAINES CRUES ET BROYÉES					
AVEC DE L'EAU	0,9417	110	22,9	203	6,9

Comme il est facile de s'en rendre compte par l'examen des chiffres ci-dessus, on constate :

1° que l'huile provenant des graines cuites ne diffère pas de celle extraite des graines broyées à sec ;

2° que par contre, l'huile provenant des graines crues et broyées avec de l'eau est modifiée dans le même sens que celle du résidu de fabrication du lait de soja : mais dans le présent cas, la totalité de l'huile contenue dans les graines de soja a été oxydée et non pas la seule partie restante dans le résidu de la fabrication du lait de soja.



Dans une autre série d'expériences nous avons repris le résidu de la fabrication et nous y avons émulsionné de l'huile de soja commerciale en quantité suffisante pour en ramener la teneur en lipides à 17 % du produit sec. D'autre part nous avons opéré de même sur une autre partie du même échantillon,

en prenant soin cette fois, de le faire bouillir quelques instants dans l'eau avant l'addition de l'huile commerciale. L'huile des produits séchés a été finalement extraite par l'éther. L'examen de leurs indices nous montre que l'huile émulsionnée dans la pâte de résidu cuit n'a pas été modifiée et que par contre, l'huile émulsionnée dans la pâte de résidu cru a été modifiée dans le sens déjà constaté.

Voici les données numériques sur lesquelles repose cette constatation :

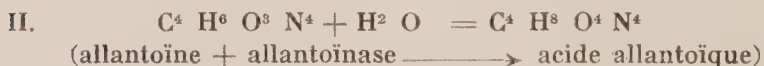
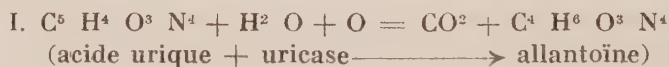
HUILE DE SOJA COMMERCIALE : D_4^{15}		LIBE	LAc6t	I.S.	I Acid.	
a) N'AYANT SUBI AUCUN TRAITEMENT.....	0,9271	131	6,7	192	1,4	
b) AYANT ÉTÉ ÉMULSIONNÉE DANS LA PÂTE DE RÉSIDU DE FABRICATION	{	CUIT. 0,9284	132	7,7	194	1,4
		CRU.. 0,9451	113	25,9	204	3,9

Toutes ces observations nous conduisaient à admettre qu'il existe dans la graine de soja, un ferment oxydant capable d'oxyder, soit l'huile contenue dans cette graine soit l'huile de soja incorporée.

CHAPITRE IV

L'existence des ferments oxydants des lipides ou " LIPOXYDASES " dans les graines de soja (Glycine soja, Glycine hispida) et dans celles de haricot commun (Phaseolus vulgaris)

Nous avons déjà indiqué dans le premier chapitre que Street et Bailly ont décelé en 1915, l'existence d'une peroxydase dans la graine de soja par la réaction colorée de la teinture de gaïac en présence d'eau oxygénée et que d'autre part, Fosse, Brunel et De Græve y ont signalé la présence d'une oxydase du type de l'uricase parce qu'ils ont obtenu l'acide allantoïque à partir de l'acide urique par transformation diastasique sous l'action de soja :



La graine de soja contient donc, d'après ces travaux, une oxydase (uricase) et une peroxydase. Nous nous sommes demandés si ce ne seraient pas ces ferments qui auraient provoqué les transformations de l'huile de soja. Nous éliminons à priori l'uricase parce que comme son nom l'indique, c'est un ferment spécifique. Nous avons repris, l'expérience avec les réactifs des oxydases et des peroxydases : la teinture de gaïac et l'eau gaïacolée avec ou sans l'eau oxygénée.

Des graines de soja sont broyées et émulsionnées avec une petite quantité d'eau distillée. On les partage en quatre parties égales A,B,C,D. Les parties C et D sont portées d'abord à l'ébullition. On ajoute ensuite dans A et C. de la teinture de gaïac et dans B et D de l'eau gaïacolée, aucune des quatre n'est colorée même après un temps assez long. Mais si l'on venait à y ajouter un peu d'eau oxygénée, les parties bouillies C et D restent toujours incolores tandis que A se colore en bleu et B en rouge orange.

Nous avons obtenu les mêmes résultats en opérant sur six variétés de graines de soja différant entre elles par la couleur de leur tégument ou de leurs cotylédons comme l'indiquent les tableaux suivants :

TABLEAU I

Variétés des graines de soja

Graines	Couleur du tégument	Couleur des cotylédons
N° 1	jaune	jaune
N° 2	noir	jaune
N° 3	vert	jaune
N° 4	vert tacheté	jaune
N° 5	vert	vert
N° 6	brun	jaune

TABLEAU II

Réaction des graines de soja vis-à-vis des réactifs des oxydases

Graines de soja broyées + eau	teinture de gaïac	eau gaïacolée	avec l'eau oxygénée	sans l'eau oxygénée
non bouillies	A 10 gouttes	— —	bleu	incolore
	B — —	10 gouttes	rouge	incolore
bouillies ...	C 10 gouttes	— —	incolore	incolore
	D — —	10 gouttes	incolore	incolore

Nous avons soumis aux mêmes essais, d'autres graines provenant de plantes voisines du genre *Glycine* notamment les graines de *Dolichos lablab* (L.) de *Dolichos melanophthalma* (D.C.) et de *Phaseolus vulgaris* (L.) nous avons reconnu :

1° que toutes ces graines ne contiennent pas non plus, de ferment oxydant direct.

2° que les graines de *Dolichos lablab* se comportent vis-à-vis des réactifs des peroxydases de la même façon que celles de soja

3° que les graines de *Phaseolus vulgaris* donnent les mêmes réactions, mais beaucoup moins nettes.

4° que les graines de *Dolichos melanophthalma* ne donnent pas de réaction avec la teinture de gaïc et ne colorent que très faiblement l'eau gaïacolée additionnée d'un peu d'eau oxygénée.

il est intéressant de rechercher si comme cela se produit pour la graine de soja, les ferments indirects vis-à-vis des réactifs des oxydases de ces trois graines étaient capables aussi de jouer le rôle d'oxydases vis-à-vis de l'huile. Comme ces graines ne contiennent que fort peu de lipides :

<i>Phaseolus vulgaris</i>	lipides : ‰	0,8 — 1,4 (47)
<i>Dolichos lablab</i>		0,8 — 1,7 (48)
<i>Dolichos melanophthalma</i>	"	0,7 — 1,2

nous y avons ajouté de l'huile de soja commerciale pour faire notre recherche.

360 gr. de chaque sorte de graines sont broyées séparément et divisées en deux parties égales A et B. La partie B est additionnée préalablement de son poids d'eau et placée dans une étuve à 100° C jusqu'à ce qu'elle reprenne son poids initial. Les parties A et B, de 180 gr. chacune, sont additionnées de 30 gr. d'une huile de soja commerciale et amenée en pâte par malaxage avec 250 gr. d'eau. Ces pâtes étalées séparément sur des cuvettes photographiques ont été séchées finalement par un séjour de 24 heures dans une étuve de 40° C.

L'étude des échantillons d'huile extraite de ces divers produits nous fournit les résultats suivants :

HUILE DE SOJA COMMERCIALE		D ₄ ¹⁵	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid	
a) N'ayant subi aucun traitement		0,9271	131	6,7	192	1,4	
b) Ayant été émulsionnée dans la farine de :	Phaseolus vulgaris	cuite	0,9267	130	6,9	191	1,8
		crue	0,9384	123	18,3	198	3,0
	Dolichos lablab ..	cuite	0,9259	132	5,3	190	1,5
		crue	0,9299	128	11,3	194	4,6
	Dolichos melanph.	cuite	0,9266	131	10,8	189	2,8
		crue	0,9271	129	9,0	190	6,3

Ce qui nous permet de tirer les conclusions suivantes :

1° Les graines de *Dolichos lablab* qui se comportent vis-à-vis des réactifs des peroxydases et des oxydases d'une façon iden-

tique que celles de soja ont une action à peine prononcée vis-à-vis de l'huile de soja.

2° Les graines de *Phaseolus vulgaris*, bien qu'elles colorent plus faiblement les réactifs des peroxydases que celles de *Dolichos lablab*, oxydent cependant nettement l'huile de soja.

3° Les graines de *Dolichos melanophthalma* n'ont montré que de très faibles propriétés fermentaires oxydantes.

4° L'action des ferments oxydants des huiles est indépendante de celle des peroxydases.

C'est ce que nous allons résumer dans le tableau suivant :

Graines :	Peroxydases	oxydases	
		des phenols	des lipides
<i>Glycine soja</i>	+++++	0	+++++
<i>Phaseolus vulgaris</i>	+++	0	+++
<i>Dolichos lablab</i>	+++++	0	trace
<i>Dolichos melanoph.</i>	trace	0	0

Nous rappelons brièvement les études antérieures sur l'oxydation fermentaire des lipides :

1° l'étude de Hanriot (49) qui a tenté en vain l'oxydation des huiles par la laccase.

2° l'étude de l'oxyhydrindase d'Abelous et Aloy (50) qui ont montré que cette diastase oxydo-réductrice, oxydant les aldéhydes salicylique et anisique, en décolorant en même temps le bleu de méthylène ou le carmin d'indigo, n'oxyde cependant pas les graisses.

Il nous paraît bien fondé d'affirmer l'existence de nouveaux ferments oxydants spécifiques des lipides pour lesquels nous proposons le nom de « LIPOXYDASES. »

CHAPITRE V

Etude de la lipoxydase de soja

Nous avons décrit dans les deux chapitres précédents comment et dans quelles conditions nous avons décelé la présence des oxydases des lipides ou lipoxydases dans les graines de soja et de haricot commun. Nous avons étudié depuis, plus spécialement la lipoxydase de soja.

Tout d'abord, nous avons voulu démontrer nettement que la transformation de l'huile de soja n'a pas pour cause l'action des microbes ni celle de la chaleur. Pour cela nous avons entrepris les essais suivants :

Nous avons placé en même temps dans une étuve à 40° C les matériaux préparés à partir d'un même échantillon de soja :

1° des graines broyées à sec.

2° des graines broyées avec 150 % de leur poids d'eau.

3° des graines broyées avec 150 % de leur poids d'eau à 1 % de formol.

Nous les avons retirées de l'étuve au même instant. Les huiles extraites de ces matériaux secs et l'huile extraite des graines aussitôt broyées à sec possèdent respectivement les caractères indiqués ci-dessous :

Huile extraite :	Teneur en lipides	D ₄ ¹⁵	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.
1) des matériaux ayant séjournés 36 heures dans une étuve (40° C) :						
a) graines broyées à sec . . .	49 %	0,9260	121	8,1	191	1,9
b) graines broyées avec de l'eau	16 %	0,9329	113	23,4	198	8,1
b) graines broyées avec de l'eau à 1 % de formol....	16 %	0,9326	113	18,5	195	4,3
2) des graines broyées à sec et n'ayant subi aucun traitement	19 %	0,9264	121	11,0	192	2,5

On peut ainsi constater :

1° que l'action seule de la chaleur n'a pas causé de transformation de l'huile,

2° que la présence d'une certaine quantité d'eau est nécessaire pour qu'il y ait d'oxydation diastique,

3° que le formol n'a pas empêché l'huile des graines broyées avec l'eau de se modifier. Par suite, les modifications qu'elle a subies ne sont pas imputables à une action microbienne.

*
*
*

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons étudié l'influence du trempage sur la transformation des lipides en présence de lipoxydase de soja :

Trois lots de 500 grammes de graines de soja sont mis à tremper la veille au soir comme à la fabrique de lait de soja. Après un trempage de 16 heures on égoutte l'eau le lendemain matin. Par pesée, on constate que les graines en ont absorbé à peu près leur poids.

Les divers lots sont broyés séparément : un premier lot, sans addition aucune, est placé dans l'étuve 40° c, un deuxième lot y est placé après l'addition préalable de 500cc. d'eau. Enfin, le troisième lot additionné de la même quantité d'eau est abandonné préalablement 24 heures à l'air ($t = 12^\circ$) avant d'être placé à son tour dans l'étuve.

Après 24 heures de séchage, les divers lots secs sont extraits à l'éther. L'examen des huiles obtenues donne les résultats suivants

A) Huiles extraites des graines trempées pendant 16 heures :	Proportion d'eau absorbée ou ajoutée	Teneur en lipides	D ₄ ¹⁵	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid
1) sans nouvelle addition d'eau et séchées.	100 %	11 %	0,9293	118	10,3	195	2,6
2) additionnées de nouveau de leur poids d'eau	200 %	11 %	0,9363	112	30,9	197	9,0
a) et séchées tout de suite							
b) et séchées 24 h. après	200 %	10 %	0,9382	105,5	36,3	213	16,6
B) Huiles extraites des graines non trempées							
1) Broyées à sec.....	0 %	19 %	0,9264	121	11,0	192	2,5
2) broyées avec de l'eau et séchées	150 %	16 %	0,9367	108	22,5	203	11,4

on voit :

1° que le trempage a pour effet principal de provoquer la disparition d'une partie des lipides initiaux.

2° qu'en présence d'une fois ou deux fois de leur poids d'eau, la diminution en teneur des lipides des graines trempées est la même, mais pour que les effets du phénomène de l'oxydation soient nets, il faut que les graines aient été mises en présence d'environ de deux fois leur poids d'eau.

3° qu'enfin ces phénomènes s'accroissent avec la durée du contact de la graine trempée broyée avec de l'eau et soumise à l'action de l'air.

*
**

En troisième lieu, nous avons cherché à concentrer le ferment sous une forme maniable et nous avons réalisé les expériences suivantes :

	A) en utilisant le kaolin comme support.
1° avec le lait de soja	B) en précipitant par l'alcool et l'éther.

2° C) avec le tourteau de soja

*
**

1° A) *Lait de soja et kaolin utilisés comme support :*

500 gr. de graines finement broyées sont malaxées avec 500 cc. d'eau dans un mortier, on filtre à travers une toile pour obtenir le lait de soja, qui est actif vis-à-vis des réactifs des peroxydases.

Nous avons divisé le liquide en deux portions égales et nous avons porté une des deux portions à l'ébullition. Après refroidissement, le lait bouilli ainsi que le lait cru, furent additionnés de 150 grammes de kaolin lavé et de 30 grammes d'huile de soja commerciale. Les pâtes huileuses ainsi obtenues sont séchées et extraites dans des allonges par l'éther. Nous figurons dans le tableau suivant les principaux caractères de ces huiles :

<i>Huile de soja commerciale</i>	D_4^{15}	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.
A) <i>N'ayant subi aucun traitement</i> ..	0,9271	131	6,7	192	1,4
B) <i>Emulsionné avec kaolin (bouilli.</i>	0,9258	130	4,8	193	4,8
<i>et du lait de soja (cru...</i>	0,9410	118	13,7	205	2,8

La lipoxydase de soja est donc partiellement entraînée dans le lait de soja et ne reste pas tout entière dans le résidu lors de la fabrication du lait de soja.



B) *Précipitation de lait de soja par l'alcool et par l'éther*

250 gr. de graines finement broyées sont malaxées avec 250 c.c. d'eau dans un mortier ; après décantation et filtration, on obtient un liquide blanc, laiteux qui est actif vis-à-vis des réactifs des peroxydases. Le volume du liquide obtenu est sensiblement de 150 c.c. qu'on additionne d'un volume égal d'éther puis d'un même volume d'alcool à 95°. Le mélange reste encore actif. Après repos, il s'en sépare un précipité qu'on essore à la trompe, on obtient une partie liquide qui n'est plus active vis-à-vis des réactifs des peroxydases ; mais la partie solide reste toujours active. C'est sur cette partie sur laquelle se sont fixées les peroxydases, que nous avons ajouté une quantité d'huile de soja commerciale avec 150 grammes de kaolin. La pâte huileuse ainsi obtenue est séchée et extraite comme précédemment. L'huile obtenue possède les caractères suivants :

<i>Huile de soja commerciale</i>	D_4^{15}	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.
A) <i>N'ayant subi aucun traitement</i> ..	0,9271	131	6,7	192	1,4
B) <i>Emulsionnée avec un précipité obtenu par addition d'alcool-éther à du lait de soja</i>	0,9261	129	12,1	190	1,8

Ces résultats nous amènent à conclure que la lipoxydase n'est que très faiblement entraînée par le précipité qui s'est formé au sein du lait de soja sous l'influence de l'alcool-éther.

2° C) *Essais faits avec le tourteau de soja (graines déshuilées)*

Nous avons émulsionné une huile de soja commerciale avec de l'eau et des tourteaux de soja obtenus par l'extraction : 1° à l'éther sulfurique ; 2° à l'éther de pétrole. Les pâtes huileuses sont séchées et extraites comme auparavant. Nous avons constaté que le tourteau obtenu par l'extraction à l'éther sulfurique est nettement plus actif au point de vue lipoxydasique. Voici les résultats de ces expériences :

<i>Huile de soja commerciale</i>	D_4^{15}	I. IBr.	I. Acét	I. S.	Acid.
a) <i>n'ayant subi aucun traitement ...</i>	0,9271	131	6,7	192	1,7
b) <i>ayant été émulsionnée avec du tourteau de soja obtenu par l'extraction à l'éther sulfurique.....</i>	0,9357	117	21,6	205	3,0
c) <i>ayant été émulsionnée avec du tourteau de soja obtenu par l'extraction à l'éther de pétrole.....</i>	0,9313	127	15,0	199	3,9

Nous attribuons la cause de faible pouvoir lipoxydasique des tourteaux obtenus par l'éther de pétrole, à l'action de la chaleur parce que la température du produit épuisé s'élève peu à peu, étant donné le montage de l'allonge (Fig. 1)* et le point d'ébullition de l'éther de pétrole employé (60° — 80°).

Par ailleurs, nous avons constaté que le tourteau d'épuisement à l'éther, ayant servi à une première expérience d'oxydation, a perdu la plus grande partie de son activité lipoxydasique. Les caractères de la même huile de soja commerciale ayant été émulsionnée avec des tourteaux usagés sont les suivants :

$$D_4^{15} = 0,9303 ; \text{I. IBr. } 126 ; \text{I. Acét. } 16,7 ; \text{I. S. } 205 ; \text{I. Acid. } 1,9.$$

En résumé, nous avons pu constater :

1° Que la présence d'une certaine quantité d'eau est nécessaire pour que la lipoxydase de soja manifeste son action.

2° Que celle-ci se traduit au point de vue physiologique :

A) par disparition d'une partie des lipides ;

B) par oxydation de la partie restante.

3° Que l'activité de la lipoxydase est affaiblie par l'action d'une température comprise entre 60° et 80° (extraction par l'éther de pétrole Eb : 60° — 80°).

4° Que la lipoxydase de soja est entraînée dans le lait de soja, mais elle n'est que très faiblement entraînée dans le précipité qui se forme au sein du lait de soja sous l'action de l'alcool et de l'éther.

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

CHAPITRE VI

Etude comparative des huiles de soja normale oxydée par la lipoxydase de soja

Après avoir decelé l'existence et examiné quelques-unes des propriétés de la lipoxydase de soja, il nous a paru intéressant d'étudier plus complètement les transformations d'ordre chimique qu'elle fait subir à l'huile de soja.

Voici comment nous préparons l'huile de soja oxydée : un kilogramme de graine de soja est broyé en poudre assez fine. Cette poudre est amenée ensuite à l'état de pâte par un malaxage dans un mortier avec 1.500 cc. d'eau. La pâte huileuse qui en résulte, est étalée en une couche mince dans des cuvettes photographiques et placée dans une étuve à 40°. Après un séjour de 36 h. la pâte est devenue bien sèche, on la fait passer au moulin pour la remettre en une poudre assez fine et l'huile en est extraite par l'éther dans une allonge montée comme le représente la Fig. I*.

La même série d'opérations a été recommencée plusieurs fois, de façon à obtenir à peu près un litre d'huile, quantité qui nous a paru suffisante pour faire une étude. L'huile ainsi obtenue fut réunie dans un même flacon, filtrée après une forte agitation de façon à rendre le tout homogène.

D'autre part, nous avons extrait une quantité égale de l'huile de soja normale à partir des mêmes graines.

Les principales propriétés de ces deux huiles sont les suivantes :

	Teneur	D_4^{15}	I. IBr.	I. Acét.	I. S.	I. Acid.
Huile normale	19 %	0,9264	121	11,0	192	2,5
Huile oxydée	16 %	0,9367	108	22,5	203	11,4

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

Les analyses faites (87) sur les huiles soufflées obtenues à partir des huiles naturelles maintenues à 70° (ou même 110° — 115°) en y injectant un courant d'air chaud, ont montré qu'il y a formation : a) d'acides gras inférieurs et b) d'acides hydroxylés ou oxydés.

Or, ces huiles sont caractérisées d'autre part par :

a) l'élévation de leur densité et de leurs indices d'acétyle et de saponification ;

b) l'abaissement de leur indice d'iode.

C'est aussi le cas des huiles de soja oxydées par la lipoxydase de la même graine. Aussi nous a-t-il paru logique d'orienter notre recherche vers l'identification des acides volatiles et oxydés.

L'étude de ce point particulier fait l'objet du présent chapitre.

TITRE I. - Etude des acides entraînables par la vapeur d'eau

En premier lieu, nous avons étudié les acides entraînables par la vapeur d'eau. Nous avons procédé comme suit :

150 grammes d'huile, placée dans un ballon de 3 litres, sont saponifiées avec 700 cc. d'une potasse alcoolique ayant la composition suivante :

Lessive de potasse ($d = 1,336$)	100 cc.
Alcool 90°	400 cc.
Eau distillée q. s. pour obtenir	700 cc.

La saponification est faite au bain-marie, avec réfrigérant à reflux pendant 4 heures. On distille ensuite la majeure partie de l'alcool, dont on retire généralement 400 cc. titrant 80° environ, sans pouvoir aller plus loin à cause de formation des mousses qui pourraient entraîner des pertes.

La solution alcaline de savon est additionnée ensuite de 500 c.c. d'eau distillée. On ferme le ballon avec un bouchon percé de trois trous muni (a) d'un tube plongeant pour l'arrivée de la vapeur d'eau, (b) d'une ampoule à robinet et (c) d'un tube pour distillation (fig. 2)*. On y introduit ensuite, au moyen de l'ampoule à robinet, 50 gr. de $\text{SO}_4 \text{H}_2$ con. dilué dans 8 fois son poids d'eau.

On fait bouillir d'autre part, de l'eau distillée dans un générateur de vapeur d'eau constitué par un ballon de 5 litres muni d'un tube de sûreté. Après avoir laissé bouillir quelques minu-

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

tes, on le relie au premier ballon comme l'indique la fig. 2* et la distillation par entraînement commence.

On recueille le distillat tous les 500 cc. dans une éprouvette graduée et on fait des prises de 50 cc. sur chaque portion de 500 cc. pour en déterminer l'acidité par une solution de baryte titrée. On arrête l'entraînement au moment où l'acidité est devenue pratiquement nulle, par exemple que 500 c.c. de la solution ne saturent plus que 0 gr. 023 de baryte ; c'est-à-dire au 5^me litre pour l'huile oxydée et au 1^{er} litre pour l'huile normale, mais nous avons poussé jusqu'au 2^me litre pour ce dernier cas.

Chaque litre de la solution aqueuse des acides entraînaibles passée à la distillation est neutralisée par ébullition au réfrigérant reflux avec du carbonate de baryum pendant une heure. On filtre la solution de sel de baryum à chaud ; et on lave le carbonate avec de l'eau chaude sur le filtre. On évapore enfin cette solution sous pression réduite à basse température. On reprend le résidu par l'eau chaude et termine l'évaporation dans un dessiccateur dans le vide sulfurique.

Trois essais ont été effectués sur l'huile normale de soja, nous avons obtenu respectivement 0 gr. 293, 0 gr. 273 et 0 gr. 291 de sel de baryum, la moyenne est donc de 0 gr. 285 pour 150 grammes d'huile ou 0 gr. 190 pour 100 grammes. Nous y avons dosé la teneur en baryum d'après la micro-méthode de Pregl (90), (91) en chauffant la substance avec 2 gouttes d'acide sulfurique dans un four électrique et nous avons obtenu les données suivantes :

Substance dosée	SO ⁴ Ba obtenu	Ba %
8 mgr 618	7 mgr 101	48,49
5 mgr 326	4 mgr 398	48,59

Moyenne : 48,54

Pour un gramme de substance, il y a 0 gr. 4854 de baryum, or 137 grammes de baryum correspondent à 2 grammes d'hydrogène, 0,4854 de baryum correspondent donc à $0,4854 \times \frac{2}{137}$ ou 0 gr. 00708 d'hydrogène. D'autre part, dans un gramme de substance, il y a 1 gr. — 0 gr. 4854 ou 0 gr. 5146 d'éléments organiques. En remplaçant Ba par H², un gramme de sel de baryum correspond à 0 gr. 5146 + 0 gr. 00708 ou 0 gr. 52168 d'acides. Comme 100 grammes d'huile de soja normale donnent 0 gr. 190 de ce sel, il y a donc dans 100 grammes d'huile $0,19 \times 0,5217$ ou 0 gr. 099 d'acides entraînaibles, soit 0,1 %.

Trois essais ont été effectués sur l'huile de soja oxydée. Nous avons obtenu respectivement 4 gr., 3 gr. 894 et 4 gr. 092 de sel de baryum ; la moyenne est donc 4 gr. pour 150 grammes d'huile ou 2 gr. 666 pour 100 grammes. Nous avons dosé la teneur en baryum comme précédemment. Voici les résultats obtenus :

Substance dosée	SO ⁴ Ba obtenu	Ba %
8 mgr 329	7 mgr 213	50,96
9 mgr 040	7 mgr 831	50,98

Moyenne : 50,97

Pour un gramme de substance, il y a 0 gr. 5097 de baryum, or 137 grammes de baryum correspondent à 2 grammes d'hydrogène, 0,5097 de baryum correspondent donc à $0,3097 \times \frac{2}{137}$ ou 0,00742 d'hydrogène. D'autre part, dans un gramme de substance, il y a 1 gr. — 0 gr. 5097 ou 0 gr. 4903 d'éléments organiques. En remplaçant Ba par H², un gramme de sel de baryum correspond à 0 gr. 4903 + 0 gr. 00742 ou 0 gr. 49772 d'acides. Comme 100 grammes d'huile de soja oxydée donnent 2 gr. 666 de ce sel, il y a donc dans 100 grammes d'huile $2,666 \times 0,49772$ ou 1 gr. 327 d'acides entraînables, soit 1,33 %.

En résumé, la teneur des acides entraînables des huiles normale et oxydée est la suivante :

Huile de soja :	Teneur en acides entraînables
{ normale	0,10 %
{ oxydée	1,33 %

L'huile oxydée contient treize fois plus d'acides entraînables que l'huile normale.

Les sels de baryum de ces acides provenant des huiles normale et oxydée sont tous les deux très hygroscopiques. Pour en faire l'analyse, nous avons dû les peser dans des boîtes en verre bouchées à l'émeri.

Les analyses élémentaires ont été faites d'après les micro-méthodes de Pregl (90) (91). Voici les résultats obtenus :

Sel de Baryum des acides entraînables des huiles de soja :	Substance pesée	H ² O	C ² O	H %	C %
Normale.....}	11 mgr 450	2 mgr 710	8 mgr 086	2,70	19,25
	10 mgr 893	2 mgr 599	7 mgr 789	2,67	19,50
			Moyenne....	2,69	19,38
oxydée.....{	11 mgr 187	2 mgr 626	7 mgr 882	2,63	19,21
	7 mgr 755	1 mgr 918	5 mgr 415	2,76	19,04
			Moyenne....	2,69	19,13

Nous avons ainsi la composition de ces sels :

de l'huile de soja :	Ba %	C %	H %	O %	par différence)
normale	48,54	19,38	2,69	29,39	
oxydée	50,97	19,13	2,69	27,21	

D'après leur composition centésimale, nous avons pu calculer pour eux une formule brute, purement hypothétique, mais qui fournit sur eux quelques renseignements utiles. Ces formules sont :

a) pour sels des acides entraînaables de l'huile normale :



b) pour sels des acides entraînaables de l'huile oxydée :



Rappelons que les sels des acides saturés ont la formule générale $[CH^3 - (CH^2)^n - COO]^2 Ba$, dans le cas de l'acétate, nous avons $[CH^3 - COO]^2 Ba$ ou $C^2 H^3 O^2 Ba^{0,5}$ ou $C^n H^{2n-1} O^2 Ba^{0,5}$.

On voit que dans les deux cas, nos sels sont beaucoup plus riches en O que ceux des acides saturés, ce qui indique qu'il y a en plus de la fonction acide, des fonctions : alcool, aldéhyde ou cétone dans le mélange des acides.

Les expériences montrent qu'il doit exister des acides aldéhydes. En effet, avec les sels des acides entraînaables des huiles normale et oxydée, nous avons obtenu par le nitrate d'argent, des précipités blancs de sel d'argent qui jaunissent à la lumière et brunissent sous l'influence de la chaleur.

D'autre part, par le réactif de Schiff, nous avons pu constater qu'ils le recolorent.

Quel peut être l'aldo-acide entraîné à la distillation ? Nous pouvons choisir entre l'acide glyoxylique et l'acide aldopropionique. La présence de ce dernier paraît la plus vraisemblable. Nous n'avons rien obtenu, en effet, par la réaction très sensible de R. Fosse et A. Hieulle (55) (56) (57) qui consiste dans l'apparition d'une coloration rouge fuchsine intense « lorsqu'on traite l'acide

glyoxylique par le réactif employé par Schryner pour caractériser l'aldéhyde formique ». Ce réactif est constitué par :

<i>Solution de Chlorhydrate de phénylhydrazine à 1/100</i>	0,cc5
<i>Solution de ferricyanure de potassium à 5/100</i>	0,cc25

pour 1 c.c. de la solution d'acide glyoxylique à 1/1000 ; on ajoute ensuite à ce mélange 1 c.c. d'acide chlorhydrique concentré, on obtient alors une coloration rouge fuchsine.

Nous avons recherché, d'autre part, la présence des acides alcools par la réaction de Berg (92) qui a montré qu'un « réactif fait avec 2 gouttes de $\text{Cl}^3 \text{Fe}$ officinal, 2 gouttes d'acide chlorhydrique et 100 c.c. d'eau, sensiblement incolore par lui-même, prenait une teinte jaune serin par l'addition d'une petite quantité d'un acide alcool » ; mais nos résultats sont négatifs.

Nous avons étudié ensuite par la méthode de Duclaux (53) (54) la courbe de distillation de ces acides. On sait que cette méthode consiste à distiller 110 c.c. d'une solution étendue d'un acide ou d'un mélange d'acides entraînaibles par la vapeur en recueillant dix prises successives de 10 c.c. chacune. On les sature au fur et à mesure par l'eau de chaux titrée versée au moyen d'une burette graduée. On note à chaque titrage le volume total de réactif employé à partir du commencement de l'opération. On dresse alors une courbe de volatilité en prenant :

a) comme abscisses, les sommes des volumes successifs de liquide distillé ;

b) comme ordonnées, les rapports des volumes successifs de réactifs employés avec le volume total utilisé pour les dix titrages.

C'est ainsi qu'on a pu établir pour les acides formique, acétique et propionique les données suivantes (voir fig. 5)*.

a) Volumes distillés	10cc	20cc	30cc	40cc	50cc	60cc	70cc	80cc	90cc	100cc																																	
b) Proportions d'acide entraîné dans le cas de l'acide	<table> <tr> <td>a) formique . .</td><td>5,9</td><td>12,2</td><td>19,0</td><td>26,4</td><td>34,4</td><td>43,2</td><td>52,8</td><td>64,6</td><td>79,6</td><td>100%.</td></tr> <tr> <td>b) acétique . .</td><td>7,4</td><td>15,2</td><td>23,4</td><td>32,0</td><td>40,9</td><td>50,5</td><td>60,9</td><td>71,9</td><td>84,4</td><td>100%.</td></tr> <tr> <td>c) propionique.</td><td>12,1</td><td>24,0</td><td>35,3</td><td>46,2</td><td>56,8</td><td>66,7</td><td>76,2</td><td>85,0</td><td>93,0</td><td>100%.</td></tr> </table>										a) formique . .	5,9	12,2	19,0	26,4	34,4	43,2	52,8	64,6	79,6	100%.	b) acétique . .	7,4	15,2	23,4	32,0	40,9	50,5	60,9	71,9	84,4	100%.	c) propionique.	12,1	24,0	35,3	46,2	56,8	66,7	76,2	85,0	93,0	100%.
a) formique . .	5,9	12,2	19,0	26,4	34,4	43,2	52,8	64,6	79,6	100%.																																	
b) acétique . .	7,4	15,2	23,4	32,0	40,9	50,5	60,9	71,9	84,4	100%.																																	
c) propionique.	12,1	24,0	35,3	46,2	56,8	66,7	76,2	85,0	93,0	100%.																																	

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

Avec nos sels de Ba nous avons préparé une solution diluée d'acides volatils. L'application de la méthode de Duclaux nous a donné les résultats suivants (voir fig. 3 et 4)*.

a) Volumes distillés	10cc	20cc	30cc	40cc	50cc	60cc	70cc	80cc	90cc	100cc
b) Proportions d'acides entraînés dans le cas des acides de l'huile										
a) normale . .	7,2	15,1	23,0	31,6	41,0	50,3	60,4	71,9	84,4	100%
b) oxydée. . .	7,3	15,7	23,8	32,7	41,0	51,1	60,7	71,9	84,3	100%

D'après ces résultats, nous pouvons considérer :

1° Que les acides entraînaibles qui existent dans l'huile de soja normale et oxydée extraites à partir des graines sont semblables.

2° Que ces acides sont probablement un mélange d'acides acétique et aldo-propionique en proportions variables dans les huiles normale et oxydée.

3° Qu'il en existe seulement 0,1 % dans l'huile normale, par contre il en existe treize fois plus dans l'huile oxydée.

TITRE II — Etude des acides gras - non entraînaibles.

La partie restante dans le ballon est constituée par l'ensemble des acides gras et des insaponifiables. Nous les avons extrait par l'éther sulfurique et nous avons obtenu 142 gr. 50 ou 94,91 % pour l'huile normale et 139 gr. ou 92,66 % pour l'huile de soja oxydée (indice de Hehner). On peut considérer que l'on est en présence d'un mélange d'acides gras fixes contenant une faible proportion (1,5 % environ) de matières insaponifiables.

Nous avons déterminé sur cet ensemble les caractères chimiques suivants :

		I. IBr	I S
Acides gras et insaponifiables	de l'huile normale	126,5	197,6
	de l'huile oxydée	114,4	204,4

Nous avons étudié ces acides d'après la méthode qu'avait employé Emile André (88) (89) dans une étude sur les huiles de pépin de raisin.

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

Voici comment nous avons opéré :

100 grammes du mélange d'acides gras sont traités dans un ballon de 3 litres avec 25 grammes de carbonate de lithium, 1.475 c.c. d'alcool 95° et 525 c.c. d'eau distillée. Le tout est chauffé à reflux à l'aide d'un bain-marie pendant quatre heures.

Le liquide bouillant contient en suspension l'excès de carbonate de lithium et une petite quantité de savons de lithium insolubles à chaud dans l'alcool. On filtre sans laisser refroidir et l'on obtient :

1° un liquide limpide à chaud et

2° un précipité qui reste sur le filtre.

Le précipité est lavé avec une solution d'acide chlorhydrique $2 \times N$ qui décompose $\text{CO}_3 \text{Li}^2$ et libère les acides gras des savons qui l'accompagnent. Ces acides sont extraits par l'éther, et la solution étherée est lavée à l'eau distillée et séchée sur du sulfate de sodium anhydre. On distille enfin l'éther et l'on obtient une première fraction des acides gras que nous appelons fraction A.

Dans le liquide de filtration à chaud que nous avons désigné sous le nom de liquide 1¹, il se forme, par refroidissement, un abondant dépôt cristallin que l'on sépare par essorage. On obtient ainsi une deuxième fraction de savons lithiques. Ces cristaux sont traités par l'acide chlorhydrique étendu comme la première récolte et l'on en extrait la deuxième fraction d'acides gras que nous appelons fraction B.

Les nouvelles eaux-mères ou 1² sont concentrées par distillation au bain-marie, à la moitié de leur volume. Après refroidissement, on obtient un nouveau précipité qu'on essore et l'on a une troisième fraction de savon de lithium dont on extrait de même les acides gras (acides gras C).

Les eaux-mères troisièmes ou 1³ sont concentrées encore une fois par distillation au bain-marie aussi loin qu'il est possible de distiller quelque chose. Le refroidissement du liquide restant forme un nouveau précipité qu'on essore : soit fraction D des savons lithiques dont la décomposition par $\text{HCl } 2 \times N$ fournit la fraction D des acides gras.

Les eaux-mères quatrièmes ou 1⁴ sont évaporées au bain de sable dans une grande capsule jusqu'à ce que le liquide ne con-

tienne plus du tout d'alcool. Après refroidissement, le liquide est devenu trouble, on essore et on a un dernier dépôt ou fraction E des savons lithiques dont on extrait de la même façon, la fraction E des acides gras.

Les dernières eaux-mères sont agitées dans une ampoule à décantation avec de l'éther pour en extraire les matières insaponifiables. La solution étherée des insaponifiables est lavée avec une solution de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ qui reprend les savons lithiques qui pourraient avoir été entraînés. On lave ensuite la solution étherée avec l'eau distillée jusqu'à ce que l'eau de lavage ne contienne plus de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$. On sèche ensuite sur $\text{SO}^4 \text{Na}^2$, on distille enfin l'éther, après le départ complet de l'éther, on obtient les insaponifiables de l'huile.

La solution aqueuse des sels de Li les plus solubles auquel est réunie la solution $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ de lavage des insaponifiables, acidifiée par une solution de $\text{HCl } 2 \times \text{N}$ et on en extrait les acides par l'éther.

La solution étherée est séchée, distillée et évaporée à la trompe dans un courant de CO^2 , on obtient finalement un liquide visqueux de couleur brun rouge foncé qu'on traite avec 20 fois son volume d'éther de pétrole (P. E. 35-55). Après agitation et décantation, on a d'une part un liquide jaune dont on chasse l'éther de pétrole et on obtient la fraction F des acides gras, et d'autre part un dépôt de liquide visqueux insoluble de couleur brun rouge foncé qu'on reprend par l'éther, ce sont des acides visqueux (fraction G).

Voici les résultats obtenus à partir des acides fixes des huiles normale et oxydée :

	état	huile normale	huile oxydée
les insaponifiables	solide	1,83 %	1,65
acides gras de la fraction	A liquide et solide	2,00	2,00
	B solide	21,00	22,00
	C solide	11,00	13,00
	D liquide	49,00	36,00
	E liquide	7,00	4,00
	F liquide	5,60	10,00
	G visqueux	1,57	11,12

calculé pour l'huile totale on a :

		huile normale	huile oxydée
les insaponifiables		1,75 %	1,53 %
les acides entraînables		0,10	1,33
les acides gras	A	1,92	1,86
	B) acides solides	20,13	20,43
	C)	10,54	12,07
	D) acides liquides	46,98	33,43
	E)	6,71	3,71
	F)	5,37	9,28
	G acides visqueux	1,51	10,33

On voit tout de suite que si la proportion des insaponifiables et des acides solides est presque la même dans les deux cas, la proportion des acides liquides est beaucoup plus faible pour l'huile de soja oxydée qui par contre contient davantage d'acides entraînables et d'acides visqueux dont la proportion est respectivement treize fois et sept fois de celle de l'huile de soja normale. Il est clair que ces acides sont formés aux dépens des acides liquides.

Nous figurons dans le tableau suivant les indices chimiques de ces acides :

		Proportion existant dans les acides fixes totaux.		IBr.	I. S.	P. M.	
huile normale	acides gras	A	2,04 %	2,04 %	121,2	213,1	263,25
		B	21,40 %	32,62 %	46,0	208,8	268,67
	acides solides	C	11,22 %		129,2	201,1	278,96
		D	49,93 %	62,77 %	150,9	199,1	281,76
	acides liquides	E	7,13 %		156,1	213,8	262,39
		F	5,71 %		147,5	204,9	273,79
	acides visqueux	G	1,60 %	1,60 %	119,3	224,4	250,00
huile oxydée	acides gras	A	2,03 %	2,03 %	103,5	216,7	258,88
		B	22,37 %	35,60 %	47,0	215,5	260,32
	acides solides	C	13,23 %		128,0	202,2	277,44
		D	36,63 %	50,54 %	146,9	204,0	275,00
	acides liquides	E	4,07 %		137,3	207,7	270,10
		F	9,84 %		145,0	208,3	269,80
	acides visqueux	G	11,31 %	11,31 %	91,8	227,6	246,48

En résumé, on peut dire d'après les données numériques du précédent tableau :

1° Que la proportion des acides solides est sensiblement la même dans les huiles normales et oxydées et qu'ils ont sensiblement les mêmes indices d'iode et de saponification.

2° Que la proportion des acides liquides est plus faible dans l'huile oxydée et que leur indice d'iode est plus bas.

3° Qu'enfin, les acides visqueux sont sept fois plus abondants dans l'huile oxydée et que leur indice d'iode est très faible.

TITRE III. — Etude des Acides Visqueux

Etant donné que les acides visqueux sont des produits dont il n'existe que très peu dans l'huile normale, mais qui sont abondants dans l'huile oxydée, aussi nous avons essayé de les étudier plus spécialement.

Nous avons vu que leurs caractères sont les suivants :

	acides visqueux de l'huile normale	acides visqueux de l'huile oxydée
% dans l'huile	1,51 %	10,33 %
% dans acides gras totaux	1,60 %	11,31 %
I. I Br.	119,3	91,8
I. S.	224,4	227,6
P. M.	250,00	246,48

Multiplions l'indice d'iode d'une huile par son P. M., nous obtenons la quantité nécessaire d'iode pour une molécule moyenne du corps. C'est ainsi que nous avons pour les acides visqueux de l'huile normale :

$$\left. \begin{array}{l} \text{I. I Br} = 119,3 \\ \text{P. M.} = 250 \end{array} \right\} 119,3 \times 250 = 298,25$$

298 gr. 25 est plus grand que 254 gr. quantité d'iode nécessaire pour saturer une double liaison*. Ce qui indique qu'il existe des acides visqueux à plus d'une double liaison, dans l'huile normale.

Par contre, pour les acides visqueux de l'huile oxydée :

$$\left. \begin{array}{l} \text{I. I Br} = 91,8 \\ \text{P. M.} = 246,48 \end{array} \right\} 91,8 \times 246,48 = 236 \text{ gr } 29$$

* Rappelons que l'on parle habituellement d'iode additionnée et d'indice d'iode, mais qu'il s'agit en réalité d'une addition de I Br (méthode Hanus) ou de I Cl (méthodes de Hübl ou de Wijs).

236 gr. 29 est plus petit que 254, ce qui indique qu'il existe des acides visqueux saturés associés des acides visqueux à une double liaison éthylénique dans l'huile oxydée.

Par analyse élémentaire, nous avons obtenu les résultats suivants :

Acides visqueux de :	Substance pesée	H ² O	CO ²	H %	C %	O %
l'huile normale	{ 3 mgr 962	3 mgr 398	9 mgr 697	9,60	66,72	23,68
	{ 7 mgr 950	6 mgr 913	19 mgr 435	9,72	66,66	23,62
	{ 5 mgr 399	4 mgr 658	13 mgr 223	9,65	66,77	23,58
l'huile oxydée	{ 9 mgr 349	8 mgr 301	23 mgr 406	9,83	68,27	21,90
	{ 5 mgr 074	4 mgr 599	12 mgr 785	10,14	68,71	21,15
	{ 5 mgr 830	5 mgr 233	14 mgr 667	10,04	68,60	21,36

$$\text{Etant donné que : } C \% = \frac{X_c \times C}{P.M.}$$

$$H \% = \frac{X_h \times H}{P.M.}$$

$$O \% = \frac{X_o \times O}{P.M.}$$

Par calcul nous avons trouvé :

1° pour les acides visqueux de l'huile normale	C 13,90	H 24,00	O 3,70
	C 13,89	H 24,30	O 3,69
	C 13,91	H 24,12	O 3,68
dont la moyenne est :	C 13,90	H 24,14	O 3,69
2° pour les acides visqueux de l'huile oxydée	C 14,02	H 24,23	O 3,37
	C 14,11	H 24,99	O 3,26
	C 14,09	H 24,74	O 3,29
dont la moyenne est :	C 14,07	H 24,65	O 3,31

D'après ces données, nous pouvons considérer :

1° Que dans une molécule gramme moyenne d'acides visqueux de l'huile normale il y a 24 gr. 14 d'hydrogène tandis que dans ceux de l'huile oxydée, il y en a 24 gr. 65 : 24 gr. 65 — 24 gr. 14, la différence des deux est de 0,5 : un demi atome d'hydrogène. Ce que confirme bien la différence des indices d'iode des deux huiles.

2° Que ces acides sont des acides riches en fonction hydroxylés. D'après leur richesse en oxygène, en supposant que l'on a affaire à des acides monocarboxylés, on pourrait attendre des indices d'acétyle de 405,6 pour les acides visqueux de l'huile normale et de 391,9 pour ceux de l'huile oxydée.

Nous en avons déterminé l'indice d'acétyle et nous avons obtenu 156 pour les acides visqueux de l'huile normale, 171,3 pour ceux de l'huile oxydée. Il est vrai qu'à l'heure actuelle, nous n'avons pas en main une méthode parfaite pour mesurer l'indice d'acétyle exact des acides-alcools parce que les fonctions d'alcool peuvent s'unir aux fonctions d'acide de leur molécule aussi bien qu'à celle de l'anhydride acétique mis en œuvre. Mais il ne reste non moins vrai que ces acides visqueux contiennent des acides-alcools.

Remarquons qu'il est probable que l'étude minutieuse de la plupart des corps gras révélerait l'existence dans beaucoup d'entre eux d'une petite quantité de ces acides oxydés, mais comme leur extraction est fort laborieuse, on a négligé jusqu'ici de les rechercher.

C'est pourquoi leur présence dans l'huile de soja n'avait jamais encore été signalée.



En résumé, nous avons démontré dans le présent chapitre :

1° Qu'il existe une très faible quantité d'acides entraîna-
bles (0,1 %) et une faible quantité d'acides-alcools (1,5 %) dans
l'huile de soja.

2° Que l'action de la lipoxydase de soja a pour résultat d'en-
richir l'huile oxydée en acides de chaînes courtes (acides entraî-
nables) (13 fois de plus que dans l'huile normale) et en acides
hydroxylés (acides-alcools) (7 fois plus que dans l'huile normale)
aux dépens des acides liquides de l'huile (46,42 % contre 59,06 %).

3° Que la lipoxydase de soja n'a pas d'action sur les acides
solides (32,50 % contre 30,67 %).

4° Que les produits formés sous l'action de la lipoxydase de
soja sont en étroite liaison avec ceux qui existent déjà dans
l'huile normale.



Remarquons enfin que l'analyse élémentaire de ces deux sortes d'huiles de soja a montré, comme on devait s'y attendre, que l'huile oxydée par la lipoxydase est nettement plus riche en oxygène.

Nous donnons ci-dessous les résultats de ces analyses :

	Sub	CO ²	H ² O	C %	H %	O %	(par diff.)
huile normale	3 mgr 850	10 mgr 853	3 mgr 975	76,87	11,55	11,58	
huile oxydée	3 mgr 896	10 mgr 910	4 mgr 008	72,25	11,51	16,24	

CHAPITRE VII

Action de la lipoxydase de soja sur quelques huiles végétales et animales

Nous avons vu au chapitre V que c'est le tourteau de soja qui reste la forme maniable de la lipoxydase ; aussi avons-nous pris le tourteau d'extraction par l'éther, pour étudier l'action de la lipoxydase de soja vis-à-vis de diverses huiles animales et végétales. Nous prenons généralement 180 gr. de tourteau que nous imprégnons avec 40 gr. de l'huile à étudier (le pourcentage des liquides est donc de 18 %). Nous y ajoutons ensuite 300 gr. d'eau, broyons l'ensemble dans un grand mortier et l'étalons dans des cuvettes photographiques. Après un séjour de 24 heures dans une étuve à 40° c., la pâte huileuse est séchée et prête pour l'extraction de l'huile traitée.

TITRE I. — Huiles non siccatives

Comme huile non siccative, nous avons étudié l'huile d'olive (*Olæa europæa sativa* L.), l'huile de ricin (*Ricinus communis* L.) et l'huile d'arachide (*Arachis hypææ* L.). Nous remarquons qu'après traitement, il y a une faible élévation de densité, un petit abaissement de l'indice d'iode et une augmentation relativement forte de l'indice d'acétyle pour les huiles d'olive et d'arachide :

		D ₄ ¹⁵	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.
Huile d'olive (<i>Olæa europæa sativa</i>)	initiale.....	0,9158	84,5	8,9	190	2,1
	traitée par	cuit.. 0,9161	84	7,8	192	13,1
	du tourteau	crû... 0,9202	80	15,9	195	8,2
Huile de ricin (<i>Ricinus communis</i>)	initiale.....	0,9634	85,5	168	182	1,3
	traitée par	cuit.. 0,9668	85	165	195	22,9
	du tourteau	crû... 0,9729	80	171	207	35,7
Huile d'arachide (<i>Arachis hypagæe</i>)	initiale.....	0,9168	88	4,4	186	0,4
	traitée par	cuit.. 0,9179	87,5	6,5	188	7,5
	du tourteau	crû... 0,9219	84	15,5	191	6,3

TITRE II. — Huiles demi-siccatives

Comme huiles demi-siccatives nous avons étudié l'huile de coton (*Gossypium barbadense* L.), l'huile de sésame (*Sesamum indicum* L.) et l'huile de colza (*Brassica campestris* L.). L'élévation de densité de ces huiles sous l'action de la lipoxydase est beaucoup plus prononcée, de même l'abaissement d'indice d'iode ; l'élévation de l'indice d'acétyle de l'huile de sésame et de l'huile de colza est des plus nettes.

		D_{4}^{15}	I.Br.	I.Acet.	I.S.	I.Acid.
Huile de coton (<i>Gossypium barbadense</i>)	initiale.....	0,9245	109	16,5	192	1,3
	traitée par	0,9258	107	16,4	194	6,1
	du tourteau	0,9318	102	23,4	203	9,7
Huile de sésame (<i>Sesamum indicum</i>)	initiale.....	0,9241	112	8,6	187	4,3
	traitée par	0,9248	110	6,2	193	17,3
	du tourteau	0,9323	104	25,6	198	9,8
Huile de colza (<i>Brassica campestris</i>)	initiale.....	0,9163	116	2,4	174	0,6
	traitée par	0,9190	114	5,2	177	8,3
	du tourteau	0,9311	103	18,2	182	8,2

TITRE III. — Huiles siccatives

Comme huiles siccatives, en plus de l'huile de soja, nous avons étudié les huiles d'œillette (*Papaver somniferum* L.) et de lin (*Linum usitatissimum* L.). Contrairement à ce que l'on aurait pu supposer, ce n'est pas l'huile la plus siccative qui est la plus oxydée, c'est l'huile d'œillette qui a été la plus sensible à l'action de la lipoxydase, sous l'influence de laquelle elle s'est transformée plus profondément que l'huile de soja elle-même.

		D_{4}^{15}	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.
Huile de soja (<i>Glycine soja</i>)	initiale.....	0,9271	131	6,7	192	1,4
	traitée par	0,9276	130	9,9	197	5,4
	du tourteau	0,9357	117	21,6	205	3,0
Huile d'œillette (<i>Papaver Somniferum</i>)	initiale.....	0,9248	135	9,6	193	3,6
	traitée par	0,9287	133	11,2	196	7,8
	du tourteau	0,9500	114	36,9	219	15,7
Huile de lin (<i>Linum usitatissimum</i>)	initiale.....	0,9345	167	15,6	187	1,0
	traitée par	0,9357	163	13,5	192	8,1
	du tourteau	0,9475	151	27,4	200	7,7

TITRE IV. — Huiles d'animaux marins

Comme huiles d'animaux marins nous avons étudié les huiles de liche (*Scymnorhinus lichia* Bonnaterre), de centrophore (*Centrophorus granulosus* Müller et Henlé) et de chien de mer (*Galeus canis* Rondelet). Seule l'huile de galeus qui est constituée par des glycérides est oxydée ; tandis que les huiles de liche et de centrophore, surtout constituées par des hydrocarbures fortement non saturés, ne sont que faiblement touchées malgré leur fort indice d'iode.

		D_4^{15}	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.		
Huile de liche (<i>Scymnorhinus lichia</i>)	{	initiale.....	0,8799	271	8,5	69	1,1	
		{	cuit..	0,8800	267	8,3	70	4,0
			du tourteau	crû... 0,8869	266	13,3	74	6,5
Huile de Centrophore (<i>Centrophorus granulosus</i>)	{	initiale.....	0,8674	345	4,7	28	0,1	
		{	cuit..	0,8677	335	5,1	29	2,5
			du tourteau	crû... 0,8730	332	12,7	27	5,9
Huile de chien de mer (<i>Galeus canis</i>)	{	initiale.....	0,9245	156	14,0	178	0,4	
		{	cuit..	0,9308	148	14,4	187	5,4
			du tourteau	crû... 0,9571	124	37,0	215	12,7

TITRE V. — Huiles d'animaux terrestres

Comme huiles d'animaux terrestres nous avons étudié les huiles de pied de mouton (*Ovis aries* L.), de pied de bœuf (*Bos taurus* L.) et de lard de porc (*Sus scrofa* L.). L'action de lipoxydase de soja sur ces huiles est peu marquée.

		D_4^{15}	I.Br.	I.Acét.	I.S.	I.Acid.	
Huile de pied de mouton (<i>Ovis aries</i>)	{ initiale..... traitée par { du tourteau {	cuit..	0,9171	77	3,2	194	0,1
		crû...	0,9206	74	6,9	201	2,5
			0,9253	69	6,3	205	1,3
Huile de pied de bœuf (<i>Bos taurus</i>)	{ initiale..... traitée par { du tourteau {	cuit..	0,9164	70	3,3	195	0,3
		crû...	9,9183	71	8,0	199	3,2
			0,9258	67	9,3	206	1,7
Huile de lard de porc (<i>Sus scrofa</i>)	{ initiale..... traitée par { du tourteau {	cuit..	0,9177	89	13,8	187	3,6
		crû...	0,9263	81	16,1	196	7,9
			0,9336	76	22,1	202	7,7

On voit que les diverses huiles végétales et animales sont plus ou moins oxydées par la lipoxydase de soja en obéissant à une certaine loi de sélection :

1° Rappelons qu'au chapitre précédent, à propos de l'huile de soja oxydée, nous avons vu que ce sont les acides gras liquides, c'est-à-dire, des acides non saturés ayant un assez fort indice d'iode, se trouvent être oxydés. Le présent chapitre montre que seules les huiles contenant des acides non saturés sont attaquées tandis que les huiles à carbures non saturés ne subissent pas de telles transformations malgré leur fort indice d'iode. Nous avons des preuves frappantes avec l'huile de liche et l'huile de centrophore qui ont des indices d'iode de 271 et 345.

2° Parmi les huiles composées de glycérides des acides non saturés, la lipoxydase oxyde de préférence celles qui sont riches en glycérides linoléiques. Nous avons un exemple intéressant avec le groupe des huiles siccatives. L'huile de lin est relativement moins oxydée que les huiles de soja et d'œillette bien que les indices d'iode soient respectivement 167, 131 et 135. Or on admet généralement que la composition des acides de ces diverses huiles est la suivante :

	Acide oléique	acide linoléique	Acide linoléinique
Huile de soja	25 à 30 %	51 à 55 %	2 à 3 %
Huile d'œillette	28 %	60 %	4,6 %
Huile de lin	15 à 20 %	25 à 35 %	35 à 45 %

Il est clair que la teneur en glycérides linoléiques est le critérium de la facilité d'oxydation par la lipoxydase de soja. D'autre part, les huiles telles que celle de colza, de sésame et de coton qui sont moyennement riches en glycérides linoléiques (14 à 20 %) ne contiennent pas de glycérides linoléiniques, sont aussi oxydées quoique plus faiblement que les précédentes.

Les huiles qui sont riches en oléide mais pauvres en linoléide (15 à 7 %) telles que les huiles d'olive et d'arachide sont faiblement oxydées.

3° Enfin, pour l'huile de ricin qui est très pauvre en linoléide (2 %) son indice d'acétyle n'a pas, pour ainsi dire varié. C'est d'ailleurs, une huile oxydée par sa nature. Elle est riche en acide ricinoléique, c'est-à-dire : riche en acide-alcool et ce sont des acides alcools que nous avons trouvé dans l'huile de soja oxydée comme produit de l'oxydation biochimique.

CHAPITRE VIII

Recherches Gazo-Volumétriques concernant l'action de la Lipoxydase

Nous rappelons en commençant cette dernière partie de notre exposé que les ferments appelés par nous « lipoxydases » sont des catalyseurs biochimiques qui fixent l'oxygène sur les lipides lorsqu'on vient, par exemple, à abandonner à l'air des graines de soja finement broyées et humectées d'eau.

Nous avons indiqué dans les chapitres précédents que l'huile qui a subi l'action des lipoxydases diffère de l'huile primitive par les caractères suivants :

1° Elle est enrichie en oxygène

2° Elle contient une proportion nettement plus élevée d'oxycides fixes et d'acides de bas poids moléculaire, entraînés à la distillation avec la vapeur d'eau.

Sur la suggestion très heureuse qui nous en a été faite par Monsieur le Professeur Gabriel Bertrand et en s'inspirant des premières études qu'il avait faites sur les oxydases (74), (75), (76), (77), (78) nous avons entrepris une étude de l'action des lipoxydases par des expériences en atmosphère close.

Voici succinctement décrite la technique expérimentale à laquelle nous nous sommes arrêté après quelques tâtonnements inévitables qui furent assez courts, grâce aux conseils de Messieurs Gabriel BERTRAND, Émile ANDRÉ, et GESLIN.

50 grammes de graine de soja broyés à sec sont introduits dans un ballon de 2 litres avec 400 grammes de billes de verre (de 6 mm de diamètre). Le ballon est bouché avec un bouchon de liège percé de 2 trous donnant passage à un tube à robinet et à un tube ouvert recourbé en angle droit. Nous le fermons à la cire de Gollaz et le plaçons dans un bain d'eau. Après refroidissement de la cire, nous vérifions l'étanchéité de la fermeture au moyen d'un manomètre et d'une trompe à eau.

Nous versons ensuite, par le tube à robinet 100 cc d'une solution de chloropicrine dans l'eau en raison de 0,16 % qui empêche le développement des fermentations microbiennes sans nuire à l'action des diastases, ainsi que l'ont démontré M. le Professeur Gabriel Bertrand et M^{me} Rosenblatt (79) (80). Nous relions enfin le ballon par le tube courbé à une éprouvette gazométrique à mercure représentant un volume de 100 cc. de capacité sur 20 cm. de longueur et gradué au centimètre cube (Fig. 6*).

Après avoir fermé le robinet, nous repérons le volume du système, nous notons la température du bain d'eau et la pression atmosphérique. Par un calcul facile, nous obtenons le volume initial à 0° sous 760 mm.

Aussitôt la lecture faite, nous agitions vivement le ballon pour que la substance mise en œuvre soit uniformément répartie sur les parois du ballon pour lui offrir une plus grande surface de contact avec l'air contenu dans le système clos. Cette manœuvre est avantageusement facilitée par la présence des billes de verre.

Avant que dix minutes soient écoulées, la colonne de mercure du côté du ballon monte et la diminution de volume va en s'accroissant. Suivant la température de l'expérience, cette diminution est complète au bout de quatre à cinq heures. Nous prenons le volume final comme nous l'avons fait pour le volume initial et nous constatons une diminution voisine de 50 cc.

La même expérience faite avec des graines cuites ne donne guère qu'une diminution de 2 cc 6 qui est pratiquement nulle. Le phénomène est donc diastasique.

Une troisième expérience faite avec du tourteau crû de soja

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

déshuilé ne donne pas lieu à diminution de volume. Par contre, si on prend seulement 40 gr. de ce même tourteau qu'on y ajoute 10 gr d'huile de soja, on observe une diminution de 45 CC 3.

Ces observations expérimentales sont de grande importance parce qu'ils établissent l'étroite liaison entre l'action diastasique et l'huile. Il est nécessaire, en effet, pour que l'on observe une absorption de gaz, que la présence simultanée du ferment oxydant et de l'huile soit réalisée. Ce qui peut être traduit par les propositions suivantes :

1° Ferment et huile (graines crues ou tourteau + huile) : absorption.

2° Ferment détruit par la chaleur et huile (graines cuites) pas d'absorption.

3° Ferment et absence d'huile (Tourteau crû) pas d'absorption.

Notons en outre, un affaiblissement, peu marqué à la vérité, du pouvoir oxydant du tourteau par rapport à celui des graines.

Pour les prélèvements de gaz, nous avons adopté sur le tube à robinet, au moyen d'un bouchon, une capsule de verre percé en son fond formant ainsi une petite cuve à eau (Fig. 6)*. Nous recueillons les gaz des ballons à l'aide d'une éprouvette à gaz graduée que nous transportons ensuite sur mercure pour en faire l'analyse.

Nous avons trouvé respectivement les pourcentages suivants :

		CO ² %	O ² %
air provenant du ballon contenant	des graines crûes.....	0,68	18,75
	des graines cuites.....	0,70	20,79
	du tourteau seul.....	0,70	20,92
	du tourteau plus huile.....	0,72	19,07

On voit que la teneur en CO² est à peu près constante dans les quatre cas tandis qu'il en va tout autrement de celle de l'oxygène.

Nous avons pris comme point de départ de nos calculs, le pourcentage en oxygène de l'air du ballon contenant du tourteau seul

* Les figures se trouvent encartées à la fin de ce volume.

et nous avons pu nous rendre compte que l'oxygène disparu dans chaque système correspond dans chaque cas à la diminution totale du volume. C'est ce que nous allons faire figurer dans le tableau suivant :

<i>Expériences</i>				
	(1)	(2)	(3)	(4)
graines crues	50 gr	— —	— —	— —
graines cuites	— —	50 gr	— —	— —
tourteau crû	— —	— —	50 gr	40 gr
huile additionnée	— —	— —	— —	10 gr
eau chloropictinée	100 cc	100 cc	100 cc	100 cc
système. { ferment	actif	détruit	actif	actif
{ huile	9 gr 5	9 gr 5	0 gr	10 gr

Variation des volumes gazeux

Volume du ballon (0°760mm)	initial	1944 cc 4	1924 cc 6	1919 cc 0	1894 cc 8
	final	1893, 8	1922 0	1920 cc 5	1849 cc 5
	différence	50, 6	— 2, 6	+ 1, 5	— 45, 3

Teneur en O² à la fin des expériences

O ² % en volume	18,75 %	20,79 %	20,92 %	19, 07 %
----------------------------------	---------	---------	---------	----------

Volumes d'oxygène disparus

O ²	initial	406 cc 7	402 cc 6	401 cc 4	396 cc 4
	final	355 1	399 6	401 7	352 7
	différence	— 51, 6	— 3, 0	+ 0, 3	— 43, 7



Une seconde série d'expérience a été faite en diminuant le poids de substance mise en œuvre dans le but d'offrir un plus grand volume d'air à la réaction et nous avons obtenu les résultats suivants :

<i>Expériences</i>					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
tourteau crû	40 gr.	13 gr.	13 gr.	4 gr.	4 gr.
huile additionnée	10 gr.	3 gr.	3 gr.	1 gr.	1 gr.
eau chloropictinée	100 cc.	32 cc.	32 cc.	10 cc.	10 cc.

Variation des volumes gazeux

Volume du ballon	initial	1894 cc 8	2059 cc 5	2043 cc 7	2136 cc 8	2164 cc 4
	final	1849, 5	2029, 2	2016, 0	2119, 5	2147, 2
	différence ..	— 45, 3	— 30, 3	— 27, 7	— 17, 3	— 17, 1

Teneur en O² à la fin des expériences

O ² % en volume.....	19,07 %	19,73 %	19,89 %	20,28 %	20,30 %
---------------------------------	---------	---------	---------	---------	---------

Volumes d'Oxygène disparus

O ² en volume	initial	396 cc 4	430 cc 8	427 cc 5	447 cc 0	452 cc 8
	final	352, 7	400, 3	400, 9	429, 8	436, 7
	différence ..	— 43, 7	— 30, 5	— 26, 6	— 17, 2	— 16, 1

Rapports quantitatifs

O ² initial en poids...	0 gr 042	0 gr 616	0 gr 611	0 gr 639	0 gr 647
O ² offert à chaque gr. d'huile	0, 042	0, 205	0, 204	0, 639	0, 647
O ² disparu en poids .	0, 062	0, 043	0, 038	0, 024	0, 023
O ² disparu pour 1 gr. d'huile	0, 006	0, 014	0, 013	0, 024	0, 023

Nous constatons ainsi que plus la quantité d'oxygène offerte à un gramme est grande, plus la quantité disparue est considérable. Ce qui est tout à fait normal et nous remarquons de suite que les oxydations faites en atmosphère close sont loin d'être comparables à celles qui se produisent à l'air libre, condition dans laquelle que nous avons observé au début de nos recherches.

*
**

Dans une troisième série d'expériences, nous avons voulu vérifier les conclusions du Chapitre IV qui a trait sur l'existence de la lipoxydase dans la graine de *Phaseolus vulgaris* et son absence dans celle de *Dolichos lablab* et de *Dolichess melanophthalma*.

Nous avons fait figurer dans le tableau suivant les résultats obtenus :

		Expériences		
		(1)	(2)	(3)
Tourteau obtenu par extraction avec l'éther à partir des graines de :	<i>Ph. vulgaris</i> ..	12 gr	— —	— —
	<i>D. lablab</i>	— —	13 gr	— —
	<i>D. Melonoph</i> ..	— —	— —	13 gr
Huile de soja ajoutée		3 gr 5	3 gr	3 gr
Eau chloropocrinée		32 cc	32 cc	32 cc

Variation des volumes gazeux

Volume du ballon.....	initial	1881 cc 0	1894 cc 4	1889 cc 5
	final	1860, 4	1889, 8	1882, 5
	différence	— 20, 6	— 4, 6	— 7, 0

Teneur en O² à la fin des expériences

O ² % en volume	20,06 %	20,70 %	20,62 %
----------------------------------	---------	---------	---------

Volumes d'oxygène disparus

O ² en volume.....	initial	393 cc 5	396 cc 3	395 cc 3
	final	373, 2	391, 2	388, 2
	différence	— 20, 3	— 5, 1	— 7, 1
O ² disparu pour 1 gr d'huile		5 cc 8	1 cc 7	2 cc 4

Comme on peut le constater, il existe bien une lipoxydase dans la graine de *Phaseolus vulgaris* ; mais son pouvoir oxydant est plus faible comme nous l'avons déjà signalée à propos des indices de l'huile de soja émulsionnée avec la farine de cette graine.

Dans le cas des graines de *Dolichos lablab* et de *Dolichos Melanophthalma*, l'action est beaucoup plus faible comme nous l'avons montré précédemment au chapitre IV.

*
**

Dans une quatrième série d'expérience, nous avons repris l'étude l'action de la lipoxydase sur les diverses huiles animales et végétales et nous avons obtenu les résultats suivants :

Expériences faites avec

{ 13 gr. de tourteau crû de soja
 { 3 gr. d'une huile X
 { 32 cc. d'eau choropocrinée

Huile	Variation des volumes gazeux			Teneur de l'O ² après les expériences	Variation des volumes de l'O ²		
	initial	final	différence		initial	final	différence
X							
Huiles non siccatives							
Olive	1902 cc 6	1891 cc 8	— 10 cc 8	20,45%	398 cc 0	387 cc 1	— 10 cc 9
Ricin	1884,1	1875,1	— 9,0	20,63	394,1	386,1	— 8,0
Arachide..	1913,3	1896,5	— 16,8	20,25	400,3	384,0	— 16,3
Huiles demi siccatives							
Colza	1886,5	1868,4	— 18,1	20,12	394,6	375,9	— 18,7
Coton	1896,0	1874,4	— 21,6	20,00	396,6	374,9	— 21,7
Sésame . . .	1908,5	1883,9	— 24,6	19,94	399,2	375,6	— 23,6
Huiles siccatives							
Soja	1891,6	1860,6	— 31,0	19,60	395,7	364,6	— 31,1
Œillette ..	1911,8	1879,6	— 32,2	19,60	400,9	368,4	— 32,5
Lin	1896,3	1867,5	— 28,8	19,71	396,7	369,8	— 26,9
Huiles d'animaux marins							
Galeus . . .	1885,9	1863,3	— 22,6	20,12	394,5	374,8	— 19,3
Liche	1921,1	1912,7	— 8,4	20,59	401,9	393,8	— 8,1
Centrophore . . .	1927,8	1921,9	— 5,9	20,70	403,3	397,8	— 5,5
Huiles d'animaux terrestres							
Pied de Bouf . .	1905,3	1901,0	— 4,3	20,84	398,6	396,1	— 2,5
Pied de Mouton .	1930,5	1926,0	— 4,5	20,77	403,8	398,9	— 4,9
Lard de Porc . . .	1920,6	1910,3	— 10,3	20,51	401,8	391,8	— 10,0

On voit que ces résultats concordent avec ceux que nous avait permis d'établir l'étude particulière de chacune de ces diverses huiles oxydées par l'intermédiaire de la lipoxydase de soja (voir chapitre VII).



En dernier lieu, nous avons voulu vérifier par l'analyse élémentaire l'oxydation de l'huile dans nos expériences.

Pour cela, nous avons pris le tourteau crû de soja et l'huile de soja comme matière d'étude.

Nous les avons mis à réagir comme précédemment mais une fois la prise de gaz faite, nous démontons l'appareil et nous versons de la liqueur d'Adam dans le ballon. Ce réactif est bien connu, nous rappelons cependant sa composition :

Alcool 90°	417 c.c.
Ammoniaque d = 0,92.....	15 c.c.
Eau q. s. pour amener à.....	500 c.c.
Ether sulfurique	550 c.c.

Nous avons suivi exactement la méthode décrite par Adam pour extraire la graisse du lait, mais en fin d'opération nous avons distillé la solution étherée de lipides et achevé de chasser le dissolvant par évaporation dans le vide.

Nous avons opéré sur 3 grammes d'huile et nous avons observé une absorption totale de 28 c.c. 3, soit 0 gr. 0135 d'oxygène par gramme d'huile.

Nous avons fait comparativement l'analyse élémentaire de l'huile de soja ordinaire et de l'huile ainsi oxydée et nous avons obtenu les résultats suivants :

	Subst	CO ²	H ² O	C %	H %	O %
huile de soja (nature)	1) 6 mgr 274	17 mgr 727	6 mgr 498	77,05	11,59	11,36
	2) 7, 098	20, 006	7, 407	76,85	11,67	11,48
	3) 3, 966	16, 809	6, 150	76,83	11,53	11,64
	4) 3, 850	10, 853	3, 975	76,87	11,55	11,58
	Moyenne.....			76,90	11,585	11,515
huile de soja (oxydée en atmosphère close)	1) 4, 586	12, 793	4, 683	76,37	11,47	12,16
	2) 5, 002	14, 023	5, 179	76,45	11,58	11,97
	3) 4, 563	12, 798	4, 737	76,49	11,61	11,90
	4) 5, 443	12, 202	5, 521	76,18	11,37	12,45
	Moyenne.....			76,37	11,51	12,12

Ces résultats permettent d'établir par le calcul que la moitié seulement de l'oxygène disparu du système clos était retrouvée avec l'huile. En effet :

1° En admettant que tout l'oxygène disparu était combiné avec l'huile on aurait :

$$C \% = \frac{0,759}{1 + 0,0135} = 76,87$$

$$H \% = \frac{0,11585}{1 + 0,0135} = 11,43$$

$$O \% = \frac{0,11515 + 0,0135}{1 + 0,0135} = 12,69$$

2° En admettant la moitié seulement d'oxygène disparu et combiné à l'huile on doit avoir :

$$C \% = \frac{0,769}{1 + \frac{0,0135}{2}} = 76,38$$

$$H \% = \frac{0,11585}{1 + \frac{0,0135}{2}} = 11,51$$

$$O \% = \frac{0,11515 + \frac{0,0135}{2}}{1 + \frac{0,0135}{2}} = 12,11$$

On voit que les pourcentages calculés d'après cette hypothèse concordent très exactement avec les moyennes que nous avons trouvées par l'analyse.

Il semble donc que l'huile n'est pas le seul produit oxydé dans nos expériences. Le fait que la moitié seulement de l'oxygène disparu reste combiné avec elle, permet de supposer que l'autre moitié se porte sur une ou plusieurs autres substances réductrices contenues dans la graine. Nous avons observé, en effet, que la pâte mise en expérience prend une couleur plus foncée à mesure que le volume gazeux diminue.

CONCLUSION

A la suite de l'étude sur les transformations que subissent les lipides de la graine de soja dans la fabrication du lait et du fromage de soja, nous avons pu établir :

1° Que dans la préparation du lait et du fromage de soja, l'huile retirée du fromage reste semblable à celle des graines, tandis que celle du résidu de fabrication présente tous les caractères d'une huile qui aurait été oxydée à chaud par l'insufflation d'air (l'huile soufflée ou épaissie) dont les caractères sont les suivants : l'élévation de la densité, des indices d'acétyle et de saponification accompagnée de l'abaissement de l'indice d'iode.

2° Que la cause de cette oxydation est due à une action fermentaire sous l'influence d'une oxydase insoupçonnée jusqu'à ce jour, et que nous nommons « lipoxydases ».

3° Qu'aucun ferment contenu dans la graine de soja n'est capable d'oxyder directement à l'air les réactifs tels que la teinture de gaïac et l'eau gaïaculée, mais que, cependant, il s'y trouve une oxydase agissant directement sur l'huile.

4° Que les graines de *Dolichos lablab* qui se comportent vis-à-vis des réactifs des peroxydases d'une façon identique à celles de soja, ont une action à peine prononcée vis-à-vis de l'huile de soja, et que les graines de *Phaseolus vulgaris*, bien qu'elles ne colorent que faiblement les réactifs des peroxydases, oxydent cependant nettement l'huile de soja. Par suite, l'action des lipoxydases est indépendante de celle des peroxydases.



Au cours de nos recherches personnelles faites spécialement sur la lipoxydase de soja, nous avons pu constater :

1° Que l'action de la lipoxydase de soja se traduit par la disparition d'une quantité de lipides initiaux (19 % tombe à 16 %), et par l'oxydation de la partie restante.

2° Que le trempage préalable des graines de soja provoque à lui seul, en 12 à 14 heures, un abaissement important de leur teneur en lipides, qui tombe cette fois-ci de 19 % à 11 %.

3° Que l'activité de la lipoxydase de soja est rapidement affaiblie sous l'action d'une température comprise entre 60° et 80°.

4° Que la lipoxydase de soja est un ferment soluble ; elle est entraînée dans le lait de soja, mais elle n'est que très faiblement entraînée dans le précipité qui se forme au sein du lait de soja sous l'action de l'alcool et de l'éther.

5° Qu'il existe dans l'huile de soja normale extraite à partir des graines une très faible quantité d'acides entraînaibles (0,01 %) composés vraisemblablement d'acides acétiques et aldopropionique, et qu'il existe également une faible quantité d'acides-alcools (1,5 %). La présence de ces acides n'avait jamais été signalée.

6° Que la lipoxydase de soja oxyde l'huile de soja en augmentant la proportion de ces acides aux dépens des acides gras non saturés. L'huile qui a subi son action contient treize fois plus d'acides entraînaibles et sept fois plus d'acides-alcools. Cette action paraît être étroitement liée au métabolisme des lipides dans la graine de soja.

7° Que la lipoxydase de soja oxyde de préférence les glycérides linoléiques vis-à-vis desquels elle semble posséder une action spécifique ; c'est ainsi que l'huile de lin, plus siccative, mais moins riche en linoléides, se trouve moins oxydée que l'huile d'œillette, moins siccative mais plus riche en glycérides linoléiques.

8° Que la lipoxydase de soja n'oxyde pas les carbures non saturés, tels que le squalène, malgré leur fort indice d'iode.

9° Que les lipoxydases sont des oxydases vraies, c'est-à-dire des catalyseurs biochimiques provoquant à la température ordinaire des oxydations par fixation de l'oxygène de l'air.

*
**

Toloméi (59) avait observé, en 1896, la présence dans la chair de l'olive d'une oxydase qu'il a appelée « oléase », dont il a dit

qu'elle décompose l'huile d'olive en CO_2 , acide oléique, acide acétique, acide sébacique et d'autres acides gras de plus grand poids moléculaire. Mais les phénomènes qui se produisent dans la pulpe d'olive en fermentation sont extraordinairement complexes : les matières sucrées du suc d'olive subissent en effet la fermentation alcoolique, les matières albuminoïdes subissent des fermentations putrides. L'auteur n'a formulé au sujet des transformations subies par les lipides au milieu de cette décomposition générale que des hypothèses dont aucune expérience positive n'a apporté la confirmation.

Maquenne (73) avait montré, en 1898, en étudiant comparativement la diminution des lipides et l'enrichissement en glucides des graines d'arachide et des graines de ricin en germination que les glycérides de l'acide ricinoléique disparaissent avec une rapidité beaucoup plus grande que ceux des acides gras ordinaires et que leur disparition s'accompagne d'une augmentation importante de la teneur en glucides. Il résulte de ces observations que le passage des lipides aux glucides semble avoir pour terme intermédiaire la formation de glycérides d'acides-alcools. En établissant que la lipoxydase de soja donne naissance à des acides-alcools formés aux dépens des acides non saturés (linoléiques), nous apportons un fait nouveau qui confirme les anciennes données expérimentales de Maquenne.

Mazé (58), en 1900, avait supposé l'existence dans les graines oléagineuses en germination d'une « diastase oxydante » qui serait « capable de transformer un groupement carbure CH^2 en groupement alcoolique CHOH par fixation d'oxygène ».

Nos expériences montrent, au contraire, que c'est aux dépens des liaisons éthyléniques — $\text{CH} = \text{CH}$ — des glycérides que les fonctions alcools prennent naissance. Au reste jamais aucune expérience, ni en chimie pure, ni en chimie biologique, n'a permis de passer directement du groupement carbure — CH^2 — au groupement alcool — CHOH —.

Plus récemment, en 1920, au cours d'une revue sur l'Etat actuel de nos connaissances « sur l'utilisation des graisses au cours de la germination des graines », Terroine (60) hésite entre deux hypothèses émises au sujet du phénomène de l'abaissement de l'indice d'iode des lipides au cours de la germination. Ces deux hypothèses sont :

a) « Consommation des glycérides les moins saturés en premier lieu » [Iwanow (62), Sani (63), Schmidt (64)].

b) « Oxydation faisant apparaître des groupements oxhydriques à la place des liaisons doubles » [Fleury (65), Muntz (66), Bonnier et Mangin (67), Godlewski (61)].

Terroine émet également des doutes sur la formation des hydroxyacides [Von Furth (68), Miller (69), Leclerc de Sablon (70)] et des acides gras à chaîne plus courte [Miller (69), Jegorow (71), Von Furth (68)] au cours de l'évolution des lipides des graines oléagineuses lors de leur germination.

L'étude de la lipoxydase de soja nous a permis de mettre en lumière un certain nombre de faits qui apportent une base expérimentale nouvelle à diverses hypothèses anciennement émises au sujet d'observations isolées concernant l'évolution des graisses lors de la germination des graines oléagineuses.

Nous espérons que d'autres recherches pourront être faites utilement dans le même sens et qu'elles permettront de jeter des lumières nouvelles sur la question encore si obscure du métabolisme des lipides chez les végétaux.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) LI YU-YING et GRANDVOINNET. *Le Soja*, p. 5. Paris, 1912.
- (2) LINNÉ. *Species Plantarum*, 722.
- (3) MOENCH. *Meth. Plant. Hort. bot. et agric. Martigensis*, p. 153, 1749.
- (4) LI YU-YING et GRANDVOINNET. *Le Soja*, p. 11.
- (5) SIEBOLD et ZUCCARINI. *Abh. Akad. Muench*, 1843, IV, 2, p. 119.
- (6) MIQUEL. *Fl. Ind. Bat.*, I, 1 p. 223.
- (7) SAIR. *Pisa nuovo giorn. litt.* 1824 VIII, p. 113.
- (8) MAXIMOVIEZ. *Bull. Acad. Petersb.* 1873, XVIII, p. 398.
- (9) LINNÉ. *Species Plantarum*, 754.
- (10) ITIÉ. *Le Soja*. Paris, 1911, p. 5.
- (11) PRAIN. *Journal of the asiatic society of Bengal*, LXVI, p. 403.
- (12) *Bull. matières grasses* 1932, N° 4, p. 117.
- (13) D'après les analyses de : AUFRAY, BALLAND, BLOCH, CAPLAN, CAVENDISH, EVELYN et LEARDET, GILJARINSKI, GOESMANN, JOURNALIE, KELLNER, KÖNIG, LECHARTIER, LIPSKI, MUNTZ, NIKITIN, PELLET, PRINSEN, SCHROEDER, SCUFF, STEUF, STINGL et MORANSKI.
- (14) MEISSL et BOCKER. *Monatshefte für Chemie*, 1883, IV, p. 349.
- (15) OSBORNE et CAMPBELL. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1898, t. 20, p. 419.
- (16) JONES WATERMANN. *J. biol. Chem.*, 1920, t. 46, p. 459.
- (17) LEVALLOIS. *C. R. Acad. Sciences*, 1881, t. 93, p. 281.
- (18) MORAWSKI et STINGL. *Monatsh. Chem.*, 1887, t. 8, p. 82.
- (19) SCHULZE et FRANKFURT. *Z. Physiol. Chem.*, 1895, t. 20, p. 511.
- (20) TANRET. *C. R. Acad. Sciences*, 1912, t. 155, p. 1526.
- (21) TANRET. *Bull. Soc. Chim. France*, 1913, 4^e série, t. 13, p. 179.
- (22) PFAHLER. *Chemische Umschau*, 1926, XXXIII, p. 65.
- (23) PFAHLER. *Matières grasses*, 1926, p. 7564.
- (24) HOLTZ. *Seifensieder Stg.* 1929, T. 56. N°s 13, 14, 15, 16 et 17, p. 103, 112, 121, 130 et 140.
- (25) *Bull. mat. grasses*, 1929, p. 208.
- (26) MORAWSKI et STINGL. *Monatshefte f. ch.*, 1886, t. 7, p. 176.
- (27) STREET et BAILLY. *J. Ind. Engin. Chem.*, 1915, t. 7, p. 853.
- (28) SAMEC. *C. R. Acad. Sciences*, 1925, t. 181, p. 532.
- (29) G. BERTRADD et RIVKIND. *Bull. Soc. Ch. France*, 1907, 4^e série, t. I, p. 497.
- (30) TAKEUCHI. *J. Coll. agric. Tokyo*, 1909, t. I, p. 1.

- (31) Voir les travaux des chercheurs suivants : ANNETT, ARMSTRONG, U. HORTON, BARTON, BEARD, CARNOT, DOX, EIGENBERGER, FOSSE, HINDMARSH, HOSOKAURA, JACOBY U. SUGGA, KATO et YOKUGAKUZASSHI, MATTAAR, NAKAZAWA, NEMEC, NEUMANN, SUMMER U. HOLLOWAY, SUMMER U. GRAHAM, VOSKRESSENSKY, WAGENAAR, WESTER, WIRKUNG U. IWANOFF, etc...
- (32) FOSSE et BRUNEL. *C. R. Acad. Sciences*, 1929, t. 188, p. 426.
- (33) FALK. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1915, t. 37, p. 649.
- (34) BARTON. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1930, t. 42, p. 620.
- (35) FOSSE, BRUNEL et DE GRÆVE. *C. R. Acad. Sciences*, 1929, t. 189, p. 213.
- (36) NITZESCU et COSMA. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. 89, p. 1247.
- (37) E. ANDRÉ et K. HOU. *C. R. Acad. Sciences*, 1932, t. 194, p. 645.
- (38) KODAMA. *Ind. Eng. Chem.*, 1924, t. 16, p. 253.
- (39) LI YU-YING et GRANDVOINET. *Le soja*, 1912, p. 6.
- (40) DUHARDIN-BEAUMETZ. *L'alimentation et les Régimes*.
- (41) FRITSCH. *Fabrication et Raffinage des huiles végétales*.
- (42) RIEDEL. Brevet A. G. D. R. P. 464,553 (résumé dans la *Seifinsieder Ztg.* 1929, n° 11).
- (43) BELTZER. *Industries du Lactose et de Caséine végétale du soja*, p. 117. (Lib. Bernard Tignol, Paris).
- (44) Voir Chapitre II, p. 25.
- (45) HANUS. *Zeit. f. unters. Nahr- u. Genussm* 1901 IV, p. 913.
- (46) E. ANDRÉ. *Bull. soc. chim. France*, 1925, 4^e série, t. 37, p. 335.
- (47) BALLAND. *C. R. Acad. Sciences*, 1903, t. 136, p. 934.
- (48) WITKE. *Chem. Ztg.* 1916, t. 40, p. 147.
- (49) HANRIOT. *C. R. Acad. Sciences*, 1898, t. 127 p. 561.
- (50) ABELOUS et ALOY. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, p. 783.
- (51) SATO. *J. Ch. Ind. Japon*, 1923, t. 26, p. 297.
- (52) SATO et K. F. TSENG. *J. Ch. Ind. Japon*, 1926, t. 29, p. 109.
- (53) DUCLAUX. *Traité de Microbiologie* (t. III, p. 385).
- (54) G. BERTRAND et THOMAS. *Guide pour les manipulations de Chimie biologique*. (Paris, 1913, p. 411).
- (55) R. FOSSE et A. HIEULLE. *C. R. Acad. Sciences* 1924, t. 179, p. 636.
- (56) FOSSE. *Urée*. (Paris, 1928, p. 221).
- (57) HIEULLE. Thèse ès Sciences, Lille 1927, p. 17.
- (58) MAZÉ. *C. R. Acad. Sciences* 1900, V. 130, p. 424.
- (59) TOLOMEI. *Atti R. Acad. dei Lincei*, 1896, 5^e sér. Rendiconti, Vol. V, p. 122.
- (60) TERROINE. *Ann. des Sciences Nat. Botaniques* 1920, 10^e série, t. 2, p. 1.

- (61) GODLEWSKI. *Jahrb. j. wiss. Bot.* 1882, t. XIII, p. 491.
- (62) IWANOW. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, L. 1912., p. 375.
- (63) SANI. *Atti d. R. Ac. d. Lincei Roma* 1900, 5^e série, IX, p. 47.
- (64) SCHMIDT. *Flora*, 1891, LXXIV, p. 300.
- (65) FLEURY. *Ann. de Chim. et Phys.*, 1865, IV, p. 38.
- (66) MUNTZ. *Ann. de Chim. et Phys.*, 1871, (4), XXII, p. 472.
- (67) BONNIER et MANGIN. *Ann. des Sc. Nat. Bot.*, 1885, 7^e sér., t. II.
- (68) VON FURTH. *Hofm Beite*, 1903, IV, p. 430.
- (69) MILLER. *Ann. of Bot.*, 1912, XXVI, p. 890.
- (70) LECLERC DE SABLON. *Revue gén. de Bot.*, 1895, VII, p. 145, 205 et 258.
- (71) JEGOROW. *Ann. Inst. agron. Moscou*, 1904, X, d'après *Bot. Zentralbl.* C. I, p. 597.
- (72) ITIÉ. *Le soja*, p. 13.
- (73) MAQUENNE. *C. R. Acad. Sciences*, 1898, t. 127, p. 625.
- (74) G. BERTRAND. *Bull. Soc. Chim.*, 1894, t. II, p. 717.
- (75) G. BERTRAND. — — — 1895, t. 13, p. 365.
- (76) G. BERTRAND. — — — 1896, t. 15, p. 791.
- (77) G. BERTRAND. *Ann. de Chim. et Phys.*, 1897, 7^e s., t. 12, p. 115.
- (78) G. BERTRAND. *Arch. de Physiol.*, 1896, n° 1, p. 23.
- (79) G. BERTRAND. *C. R. Acad. Sciences*, 1919, t. 168, p. 742.
- (80) G. BERTRAND et Mine ROSENBLATT. *C. R. Sciences*, 1920, t. 171, p. 137.
- (81) LI YU-YING et GRANDVOINNET. *Le soja*, p. 31.
- (82) ITIÉ. *Le soja*, p. 42.
- (83) LI YU-YING et GRANDVOINNET. *Le soja*, p. 19.
- (84) KODAMA. *S. Ch. Soc. Japan*, 1922, t. 43, p. 956.
- (85) KODAMA. *Bull. Soc. Chim. France*, 1923, t. 34, p. 2117.
- (86) LECLERC DE SABLON. *Rev. gen. de botanique*, 1895, t. 7, p. 264.
- (87) LEWKOWITSCH et BOUTOUX. *Technologique et analyse chimiques des graisses et cires*. Paris, 1918. Tome III, p. 1588.
- (88) Emile ANDRÉ. *C. R. Acad. Sciences*, 1921, t. 172, p. 1413.
- (89) Emile ANDRÉ. *C. R. Acad. Sciences*, 1923, t. 176, p. 843.
- (90) F. PREGL. *Die quantitative organische Mikroanalyse*. Berlin, 1930. Dritte Anglage.
- (91) F. PREGL et WELTER. *La microanalyse organique quantitative*. Paris, 1923.
- (92) DENIGES. *Précis de chimie analytique*. Paris, 1930. T. I, p. 234.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	11
CHAPITRE I. — Le soja au point de vue botanique, agricole, chimique, physiologique et biochimique.....	15
CHAPITRE II. — Produits alimentaires et industriels à base de soja.....	23
CHAPITRE III. — Etude des transformations que subissent les lipides dans la fabrication du lait et du fromage de soja.....	29
CHAPITRE IV. — L'existence des ferments oxydants des lipides ou « lipoxydases » dans les graines de soja et dans celles de haricot commun.....	34
CHAPITRE V. — Etude de la lipoxydase de soja.....	38
CHAPITRE VI. — Etude comparative des huiles de soja normale et oxydée par la lipoxydase de soja.....	43
Titre I. — Etude des acides entraîna bles par la vapeur d'eau	44
Titre II. — Etude des acides gras - non entraîna bles.....	49
Titre III. — Etude des acides visqueux.....	53
CHAPITRE VII. — Action de la lipoxydase de soja sur quelques huiles végétales et animales.....	57
Titre I. — Huiles non siccatives	57
Titre II. — Huiles demi-siccatives	58
Titre III. — Huiles siccatives	58
Titre IV. — Huiles d'animaux marins	59
Titre V. — Huiles d'animaux terrestres.....	59
CHAPITRE VIII. — Recherches gazo-volumétriques concernant l'action de la lipoxydase.....	61
CONCLUSION	70
BIBLIOGRAPHIE	74
FIGURES 1, 2 et 6.....	} en fin
FIGURES 3, 4 et 5.....	} du volume

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

LES LIPASES ANIMALES

VU ET APPROUVÉ :

, Paris le 26 Octobre 1933

Le Doyen de la Faculté des Sciences

Ch. MAURIN

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris

S. CHARLETY

